Aus der Neurologischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. G. Mertens

EXPERIMENTELLE MYOTONIE UND LÄHMUNGSPHASE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Johannes Leustenring

aus Rothenhof

Würzburg, den 11. September 1980

Aus der Neurologischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. G. Mertens

EXPERIMENTELLE MYOTONIE UND LÄHMUNGSPHASE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Johannes Leustenring

aus Rothenhof

Würzburg, den 11. September 1980

Referent:	Prof. Dr. K. Ricker
Korreferent:	Prof. Dr. H.G Mertens
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 12. 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

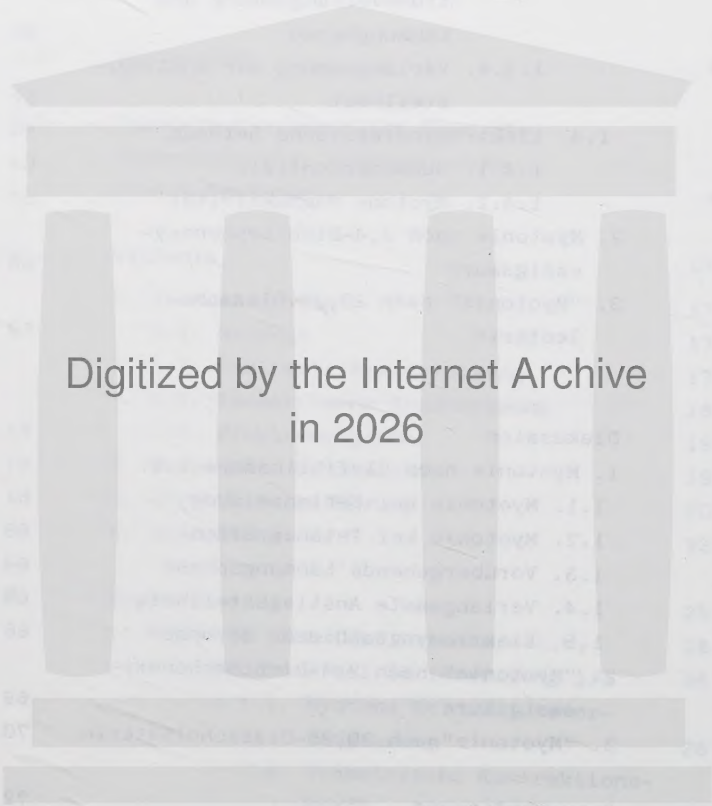
		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Historischer Überblick über die experimentelle, chemisch induzierte Myotonie	4
III.	Methodik	17
	1. Versuchsaufbau	17
	1.1. Narkose	17
	1.2. Indirekte Muskelreizung	17
	1.3. Isometrische Kraftmessung	18
	1.4. Elektromyogramm	19
	2. Verwendete Substanzen	19
	3. Versuchsdurchführung	20
	4. Auswertung	23
IV.	Ergebnisse	26
	1. Myotonie nach Clofibrinsäure i.v.	26
	1.1. Myotonie bei Serienreizung 1/s	26
	1.1.1. Myotone Relaxationsverlangsamung	26
	1.1.2. Isometrische Kontraktionskraft	31
	1.2. Myotonie bei Serienreizung 10/s und 4/s	34
	1.3. Myotonie bei Tetanusreizen	38
	1.3.1. Myotone Relaxationsverlangsamung	38

1.3.2. Isometrische Kontraktionskraft und Lähmungsphase 45
1.3.3. Beziehung zwischen myotoner Relaxationsverlangsamung und Lähmungsgrad 46
1.3.4. Verlangsamung der Anstiegssteilheit 52
1.4. Elektromyographische Befunde 54
1.4.1. Summenpotentiale 54
1.4.2. Myotone Nachaktivität 57
2. Myotonie nach 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure 58
3. "Myotonie" nach 20,25-Diazacholesterin 59

V. Diskussion 61
1. Myotonie nach Clofibrinsäure i.v. 61
1.1. Myotonie bei Serienreizung 61
1.2. Myotonie bei Tetanusreizen 63
1.3. Vorübergehende Lähmungsphase 64
1.4. Verlangsamte Anstiegssteilheit 65
1.5. Elektromyographische Befunde 66
2. "Myotonie" nach 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure 69
3. "Myotonie"nach 20,25-Diazacholesterin 70

VI. Zusammenfassung 72

Literaturverzeichnis I


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0125

I. EINLEITUNG

Bei der Myotonia congenita, die erstmals von Thomsen 1876 beschrieben wurde, handelt es sich um eine genetisch bedingte Funktionsanomalie der Muskulatur. Nach kräftiger Kontraktion kommt es bei Myotoniepatienten zu einer Erschlaffungsbehinderung, die den willkürlichen Bewegungsablauf hemmt. Nach mehreren wiederholten Kontraktionen bildet sich die Relaxationsverlangsamung zunehmend zurück bis unter weiterer Bewegung die Störung ganz verschwunden ist, was als sogenanntes "warm-up-Phänomen" bezeichnet wird. Die verlangsamte Erschlaffung ist im EMG mit einer Nachaktivität von Aktionspotentialen verbunden. Die Faserentladungen können auch durch repetitive Reizung oder Beklopfen des übererregbaren Muskels provoziert werden.

Die myotone Bewegungsbehinderung des Myotoniepatienten wurde bis vor kurzem vorwiegend durch die bei der Bewegung nach Ruhe entwickelten Relaxationsstörung des Muskels erklärt. Bei der klinischen Bobachtung fiel jedoch auf, daß bei Myotoniepatienten auch eine reversible Muskelschwäche besteht. **Ricker** et al. (1972) beschrieben erstmals eine vorübergehende Lähmungsphase bei der Myotonia congenita bei repetitiver Reizung am n. ulnaris und isometrischer Kraftmessung am Daumen. Es fand sich bei repetitiver Reizung von 15/s und 25/s nach Muskelruhe unmittelbar nach Reizbeginn eine Lähmungsphase mit vorübergehenden Amplitudenabfall des Muskelaktionspotentials und mit ihr ein Abfall der Muskelkraft. In einer neueren Arbeit wurde die transitorische Lähmungsphase von **Ricker** et al. (1978)

bei schwerer Myotonia congenita unter physiologischen Bedingungen genauer untersucht. Bei 5 von 9 Patienten mit Myotonia congenita konnte nach Muskelruhe bei wiederholten willkürlichen Kontraktionen unter isometrischen Bedingungen am Oberarm die reversible transitorische Lähmungsphase nachgewiesen werden. Die Stärke der transitorischen Lähmung nahm mit dem Schweregrad der Myotonie zu. Es fiel auf, daß sich die myotone Relaxationsverlangsamung zum Zeitpunkt der maximalen Lähmung schon zurückgebildet hatte.

Seit längerem ist bekannt, daß sich mit aromatischen Monocarbonsäuren am Säugetiermuskel experimentell eine akute reversible Myotonie induzieren läßt, die in ihren wesentlichen Punkten mit der Myotonia congenita übereinstimmt (**Eyzaguirre** et al. 1948). Ebenso zeigt der Säugetiermuskel nach chronischer Applikation des Cholesterinsynthesehemmers 20,25-Diazacholesterin myotones Verhalten (**Winer** et al. 1966). Es konnte gezeigt werden, daß bei der Myotonia congenita und bei der genetischen Myotonie der Ziege, deren weitgehende Übereinstimmung mit der menschlichen Myotonie nachgewiesen wurde (**Brown** und **Harvey** 1939), die Permeabilität des Sarkolemms für die Chloridionen reduziert ist, was für die Übererregbarkeit der Muskelmembran verantwortlich gemacht wird (**Bryant** und **Morales-Aguilera** 1971). In Übereinstimmung mit diesen Befunden konnte auch bei der experimentellen Myotonie eine Chloridkanalblockade sowohl durch aromatische Monocarbonsäuren (**Bryant** und **Morales-Aguilera** 1971, **Palade** und **Barchi** 1977, **Furman** und **Barchi** 1978) als auch nach Gabe von 20,25-Diazacholesterin (**Rüdel** und **Senges** 1972) nachgewiesen werden.

Ob die Lähmungsphase bei der Myotonia congenita letztlich ebenfalls durch die Chloridkanalblockade bedingt ist, ist nicht bekannt. Das Ziel dieser Arbeit ist festzustellen, ob die vorübergehende Lähmungsphase auch bei der experimentellen, chemisch induzierten Myotonie bei der Ratte nachweisbar ist und ob sie damit ein geeignetes Modell für weitere Untersuchungen des Pathomechanismus darstellt.

II. Historischer Überblick über die experimentelle, chemisch induzierte Myotonie

Es gibt drei Möglichkeiten am Säugetiermuskel experimentell einen Zustand zu induzieren, der in vielen Punkten mit der Myotonia congenita beim Menschen übereinstimmt:

1. Behandlung mit aromatischen Monocarbonsäuren
2. Behandlung mit Cholesterinsynthesehemmern, wie 20,25-Diazacholesterin oder 25-Azacholesterin
3. In-vitro-Versuche in chloridfreiem Medium

1. Aromatische Monocarbonsäuren

Pohl (1917) bemerkte, daß durch Tetrahydroatophan beim Kaninchen nach Anfassen eine tetanische Streckung der Extremitäten mit verlangsamter Erschlaffung ausgelöst wurde, ähnlich einem Strychnintetanus beim Frosch. Nach minutenlanger Ruhepause konnte das Phänomen immer wieder provoziert werden, wobei ihn dieser Zustand "auffällig an die Myotonia congenita (Thomsen-Krankheit)" erinnerte.

Die Erschlaffungsbehinderung nach Tetrophan, einem Abkömmling des Atophans, konnte daraufhin im Mechanogramm des m. gastrocnemius des Kaninchens gezeigt werden (**Pohl** und **Hesse** 1925). Die direkte Muskelwirkung der Substanz wurde klar erkannt, da das Phänomen auch nach Curarisierung und Durchtrennung des Nerven nachweisbar war.

Eine weitere Substanz, die klinisch an allen Muskeln der Katze eine Erschlaffungsbehinderung erzeugte, beschrieb **Eddy** (1933) mit Phenanthren-9-Carbonsäure bei einer Studie über deren pharmakologischen Wirkungen. Bei der Untersuchung der Muskeleffekte dieser Substanz wurden die verlangsamte Erschlaffung im Mechanogramm der Katze und des Kaninchens, sowie ein Anstieg der Kontraktionskraft bei Einzelreizen gezeigt (Smith 1935). Am Froschmuskel konnten die Phänomene jedoch nicht erzeugt werden.

Bei LD_{50}-Untersuchungen des Herbizids 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure an Mäusen entdeckte **Bucher** (1946) ein "vorübergehendes myotonie-ähnliches Syndrom". Bei plötzlicher Bewegung aus Ruhe heraus trat eine Erschlaffungsstörung auf, die sich mit fortgesetzter Bewegung besserte.

Eyzaguirre et al. (1948) waren die ersten, die die Übereinstimmung der 2,4-D-Phänomene an der Ratte mit der Myotonia congenita beschrieben. Zum erstenmal wurden nach 2,4-D-Gabe EMG-Aufzeichnungen repetitiver myotoner Entladungen gemacht. Weitere myotone Zeichen fanden sich im Mechanogramm des m. triceps surae: verlangsamte Erschlaffung, Ansteigen der Kontraktionskraft bei Einzelreizen. Zum erstenmal wurde auch das "warm-up-Phänomen", d.h. das Verschwinden der myotonen Phänomene durch wiederholte Muskelkontraktionen, gezeigt. Wie bei der menschlichen Myotonie besserte sich die Myotonie durch Quinin-, Magnesium- und Calciumgabe und verschlechterte sich durch Kaliumgabe.

Nachdem die mechanographische und elektromyographische Übereinstimmung zwischen 2,4-D-induzierter und genetischer Myotonie gezeigt war, untersuchten **Kuhn** und **Stein** (1964), ob Stoffwechselveränderungen im Muskel als Ursache der 2,4-D-Myotonie verantwortlich sein könnten. Im Kohlehydratstoffwechsel des m. pectoralis der Ratte fand man nach 2,4-D in vivo eine Erhöhung des Glucose-6-Phosphates, das ein wesentlicher Metabolit der Glykolyse ist.

Anschließend untersuchten **Kuhn** und **Stein** (1965), ob der Glukose-6-Phosphatanstieg nach 2,4-D bei der Ratte mit einer gesteigerten Glykolyse verbunden ist. Es zeigte sich eine erhöhte Lactatproduktion im Rattenzwerchfell und eine Erhöhung einiger anderer Glykolyse-Metaboliten im ruhenden Skeletmuskel, woraus eine gesteigerte Glykolyse geschlossen wurde. Eine Erklärung für das Auftreten der myotonen Phänomene konnte hieraus jedoch nicht abgeleitet werden.

Eine Störung im Calciumstoffwechsel als Ursache für die Erschlaffungsbehinderung nach 2,4-D bei der Ratte versuchten **Kuhn** und **Stein** (1966) nachzuweisen. Am sarkoplasmatischen Retikulum, das durch seine calciumbindende Eigenschaft für die Regulation von Kontraktion und Erschlaffung verantwortlich gemacht wird, fand sich eine verlangsamte Calciumaufnahmegeschwindigkeit des Retikulums und erhöhte Konzentration an freiem Calcium bei gesteigerter ATP-Spaltung. Als Ursache für die Erschlaffungsstörung wird die erhöhte Calciumkonzentration diskutiert, wobei vielleicht das Calcium trotz Stimulation der Vesikel-ATPase nicht weggeschafft werden kann.

Die ersten intrazellulären Aufzeichnungen von myotonen Nachentladungen nach 2,4-D-Myotonie gelangen Hofmann et al. (1966) am m. intertransversarius der Ratte in vivo.

Stein und **Kuhn** (1968) erzeugten erstmals nicht am lebenden Tier, sondern im isolierten Zwerchfellpräparat in vitro Myotonie nach 2,4-D. Hiermit war ein einfaches Untersuchungsobjekt für das weitere Studium der Entstehung der Myotonie geschaffen. Eine Verschlechterung der Myotonie durch Kalium konnte auch hier gezeigt werden, was die Bedeutsamkeit des Membransystems für die Myotonieentstehung unterstrich.

Die Wirkung von 2,4-D auf den Menschen konnte **Berwick** (1970) bei einer accidentellen Vergiftung eines Farmers mit dem Herbizid beobachten, wobei Zeichen von Myotonie nachweisbar waren.

Inzwischen wurden weitere Monocarbonsäuren gefunden, mit denen eine experimentelle Myotonie erzeugt werden konnte: 3-chloro-2,5, 6-Trimethylbenzoesäure, Anthracen-9-Carbonsäure (**Moffett** und **Tang** 1968; **Tang** et al. 1968) und ein Dimethylderivat von Tetrophan (**Nickander** et al. 1969).

Bryant und **Morales-Aguilera** (1971) brachten einen entscheidenden Einblick in den Wirkungsmechanismus der Monocarbonsäuren. Mit vier Substanzen wurden Membranleitfähigkeitsmessungen an Intercostalmuskelfasern von normalen und genetisch myotonen Ziegen durchgeführt. Hierbei zeigte sich, daß die Monocarbonsäuren offensichtlich ihre myotonen Effekte durch eine Blockade der

Chloridleitfähigkeit der Muskelmembran produzieren. Wie bei den myotonen Fasern waren bei den Fasern nach der Carbonsäure die Chloridleitfähigkeit erniedrigt. Folgende Hypothesen zum Wirkungsmechanismus der Carbonsäuren werden gegeben: Das leichte, große und breite hydrophobe Ende des Moleküls soll sich mit dem Außenrand des Chloridkanals verankern, während die aktive Carboxylgruppe sich elektrostatisch mit geladenen Gruppen des Chloridkanals verbindet und ihn somit blockiert. Zur Wirksamkeit der Monocarbonsäuren findet man, daß zwei oder drei Carboxylgruppen die Potenz der Substanz erniedrigen, ebenso Trennung der Carboxylgruppe durch Zwischengruppen vom Ring (wie z.B. beim 2,4-D). Die wirksamsten Verbindungen sollen ungefähr die gleiche Molekulargröße und das gleiche Molekulargewicht von 199 bis 298 haben.

Übereinstimmung von Membraneigenschaften bei der Myotonia congenita und Myotonie nach 2,4-D und Diazacholesterin bei experimenteller Myotonie am Rattenzwerchfell konnten nachgewiesen werden (**Rüdel** und **Senges** 1972a): der Membranwiderstand war erhöht, das Ruhepotential normal. Obwohl die Reizschwelle zur Auslösung eines Aktionspotentials bei den myotonen Fasern nicht verändert war, konnten multiple Aktionspotentiale leichter evoziert werden. Auch mechanographisch zeigten sich in vitro bei der 2,4-D-Myotonie einige Übereinstimmungen mit klinischen Phänomenen der Myotonia congenita (**Senges** und **Rüdel** 1972).

In einer Analyse myotoner Entladungen nach Anthracen-9-Carbonsäure bei der Ratte wurde hinsichtlich Amplitude und Frequenz Übereinstimmung mit der myotonen Dystrophie

des Menschen gefunden (**Mrożek** et al. 1974).

Mit intrazellulären Untersuchungen myotoner Entladungen an Rattenzwerchfellfasern nach 2,4-D kommen **Rüdel** und **Keller** (1975) zu den gleichen Ergebnissen wie **Adrian** und **Bryant** (1974) bei identischen Studien an Intercostalmuskelfasern von genetisch myotonen Ziegen. Auch die experimentell myotone Faser zeigt nach normaler Aktivität eine kumulative Nachdepolarisation, die zu repetitiven Aktionspotentialen führt. Als Ursache hierfür wird eine Kaliumakkumulation im Tubulussystem, bedingt durch den blockierten Chloridkanal der myotonen Faser, diskutiert. Die hohe Chloridleitfähigkeit der gesunden Faser soll anscheinend das Membranpotential gegenüber dieser Kaliumakkumulation stabilisieren.

Bretag (1976) berichtet von einer Abnahme der experimentellen Myotonie nach Anthracen-9-Carbonsäure in vitro durch Kälte. Es wird von einer "paradoxen" Abnahme der Myotonie gesprochen, da zu dieser Zeit in der Literatur die Ansicht vertreten wird, daß sich die Myotonia congenita durch Kälte verschlechtert, was jedoch durch neuere Untersuchungen widerlegt werden konnte (**Ricker** et al. 1977). Somit stimmt die experimentelle Myotonie mit der menschlichen Myotonie auch in diesem Punkt überein.

Inwieweit nervale Einflüsse auf das Zustandekommen der Myotonie beteiligt sind, wurde an der 2,4-D-Myotonie bei der Ratte untersucht. In vivo (**Iyer** et al. 1977b) zeigte sich, daß ab dem 10. Tag nach Denervation keine Myotonie entstehen konnte. Ebenso konnte in vitro (**Iyer** et al. 1977a) nur innerhalb 12 bis 24 Stunden

nach Denervierung eine experimentelle Myotonie nachgewiesen werden. In diesem Fall war das Phänomen auch in chloridfreiem Medium nachweisbar. Als Ursache wird eine Änderung in der Ionenleitfähigkeit nach Denervation diskutiert. Da hierdurch die Chloridleitfähigkeit sich nicht ändert, jedoch die Kaliumleitfähigkeit vermindert wird, soll dies für das Ausbleiben der Myotonie nach Denervation verantwortlich sein. Hieraus wird vermutet, daß die Kaliumleitfähigkeit bei der Entstehung der Myotonie eine bestimmte Rolle spielt.

Die Hauptursache dürfte jedoch im Chloridkanal zu suchen sein. Anscheinend wird die Chloridkanalblockade, wie **Palade** und **Barchi** (1977) am Rattenzwerchfell in vitro mit 25 verschiedenen Monocarbonsäuren zeigten, nicht nur sterisch verursacht, sondern die Substanzen werden direkt an einen spezifischen Ort in der Membran gebunden. Hierfür sprach, daß die Ionenleitfähigkeit für verschiedene Anionen (Cl^- ,Br^- ,J^-) nicht gleich war, sondern daß sie für die verschiedenen Anionen jeweils von der Konzentration der Monocarbonsäure abhängig war.

Eine enge Korrelation zwischen der Potenz zur Chloridkanalblockade und ihren produzierten Myotoniegrad wiesen **Furman** und **Barchi** (1978) an 9 Monocarbonsäuren in vitro nach. Außerdem zeigte sich in Analogie zur Myotonia congenita, daß Temperaturerniedrigung die myotone Aktivität erniedrigt. Ebenso vermindert Calciumerhöhung die repetitive Aktivität.

Myotonie nach Clofibrat innerhalb weniger Minuten nach Applikation wiesen erstmals Eberstein und Goodgold (1973) bei der Ratte nach. **Dromgoole** et al. (1975) zeigten, daß mit Chlorphenoxyisobuttersäure (=Clofibrinsäure) ebenso wie mit Clofibrat, dem Äthylester der Clofibrinsäure innerhalb von Minuten experimentelle Myotonie erzeugt werden kann, was die Hypothese bestätigte, daß Clofibrat in vivo sofort zur freien Clofibrinsäure hydrolysiert wird.

Auch mit chronischer Gabe von Clofibrinsäure konnte bei der Ratte Myotonie induziert werden (**Kwieciński** 1978). Dort war wie bei der menschlichen Myotonie im Verlauf einer direkten und indirekten repetitiven Muskelreizung eine kontinuierliche und frequenzabhängige Abnahme des Muskelaktionspotentials beobachtet worden. Im Gegensatz zu früheren Befunden konnte auch am chronisch denervierten Muskel Myotonie erzeugt werden. Außerdem wiesen die myotonen Ratten EKG-Störungen wie Patienten mit Dystrophia myotonica auf.

Spezifische morphologische Veränderungen an Ratten- und Meerschweinchenmuskeln, die über längere Zeit mit 2,4-D myoton gehalten wurden, konnten mit histologischen, elektronenmikroskopischen und histochemischen Methoden nicht gefunden werden (**Danon** et al. 1978).

2. 20,25-Diazacholesterin und 25-Azacholesterin

Bei Patienten, die wegen Hypercholesterinämie längere Zeit mit dem Cholesterinthesehemmer Diazacholesterin behandelt wurden, traten gehäufte Muskelkrämpfe sowie

klinische und elektromyographische Symptome der Myotonia congenita auf (**Winer** et al. 1965b). Im Plasma, der Erythrocytenmembran und der Muskelmembran war der Cholesterinspiegel erniedrigt, der Desmosterinspiegel (=Vorstufe des Cholesterins), der bei Muskelgesunden nicht vorkommt, war erhöht.

Als man 20,25-DAC genetisch myotonen und normalen Ziegen verabreichte (**Burns** et al. 1965b), zeigten die normalen Tiere im EMG die gleichen typischen Entladungen wie die genetisch myotonen, jedoch keine klinischen Zeichen von Myotonie. Bei den myotonen Ziegen nahmen Muskelsteifigkeit und Nachaktivität an Schweregrad zu. Der Desmosterinspiegel trat wie bei den mit 20,25-DAC behandelten Patienten auf.
Bei Ratten induzierten als erste **Winer** et al. (1966) Myotonie durch Cholesterinsynthesehemmer wie Diazacholesterin. Als Pathogenese diskutiert man einen Umbau in der Struktur der Muskelzellmembran, der zur myotonen Reaktion führt.

Übereinstimmung der myotonen Entladungen nach 25-Azacholesterin bei der Ratte mit der Myotonia congenita zeigten **Eberstein** und **Goodgold** (1968). Das Muskelaktionspotential war verkürzt, was im Gegensatz zur Myotonia congenita gut mit der myotonen Dystrophie übereinstimmt. An langsamen Rattenmuskeln wie m. soleus konnte nur nach sehr langer Verabreichung der Substanz Myotonie erzeugt werden, während die schnellen Muskeln sehr rasch myoton wurden (**Eberstein** und **Goodgold** 1969). Da langsame Muskelfasern über 50% mehr Cholesterin als schnelle enthalten, sollen sie resistenter gegenüber der Strukturveränderung sein.

Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung der Phosphatide in der Skeletmuskulatur wurden bei Ratten nach 20,25-DAC gefunden (**Kuhn** et al. 1968). Ob die bei der Myotonie vorliegenden Membranfunktionsstörungen hiermit in Zusammenhang steht, konnte nicht entschieden werden.

Am sarkoplasmatischen Retikulum und Sarkolemm der Rattenmuskulatur - Membranstrukturen, die für die Entstehung der Myotonie verantwortlich gemacht werden - waren nach Diazacholesterin dieselben Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung nachweisbar wie am Gesamtmuskel (**Seiler** und **Kuhn** 1971).

Auch bei Myotoniepatienten konnte man Unterschiede im Fettsäuremuster der Muskelphosphatide gegenüber Muskelgesunden finden, durch die die dominante von der rezessiven Form unterschieden werden konnte (**Kuhn** und **Seiler** 1970).

Obwohl Lipidveränderungen in der Muskelmembran nach 20,25-DAC nachgewiesen wurden, fanden **Schröder** und **Kuhn** (1968) bei myotonen Ratten nach Diazacholesterin weder licht- noch elektronenmikroskopisch Veränderungen an der Skeletmuskulatur entsprechend den negativen Befunden bei Biopsiematerial von Myotoniepatienten.

Hinsichtlich der elektrischen Eigenschaften (Ruhe und Aktionspotential) zeigten Rattenzwerchfellfasern nach Diazacholesterin keine abnormen Veränderungen gegenüber den Kontrollen (**Kern** et al. 1970). Lediglich bei Abkühlung war die Amplitude des Ruhe- und Aktionspotentials bei den myotonen Tieren vermindert.

Daß die Myotonie nach Diazacholesterin ebenfalls über eine Chloridblockade bewirkt wird, konnten **Rüdel** und **Senges** (1972b) zeigen.

Hinweise, daß die verminderte Chloridleitfähigkeit nach 20,25-DAC durch Umbau der Muskelmembran bedingt sein könnte, gaben **Seiler** et al. (1975). Myotonie zeigte sich erst bei Ansteigen des Desmosterins im rectus femoris der Ratte auf über 60%. Die Myotonie soll dann entstehen, wenn jedes zweite Cholesterinmolekül in der Membran durch Desmosterin ersetzt ist. Durch die veränderte Membranstruktur könnte die Chloridkanalblockade bedingt sein. Wie beim Menschen konnte auch eine erhöhte Na-K-ATPase-Aktivität - hier abhängig vom Desmosterinspiegel - nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu **Niebrój-Debosz** et al. (1972b), die eine verminderte Aktivität der Na-K-ATPase der Plasmamembran von Rattenmuskeln nach 20,25-DAC nachwiesen, waren auch bei **Peter** et al. (1975) die Na-K-ATPase-Aktivität des Skeletmuskels der Ratte nach Diazacholesterin erhöht. Dies stimmt gut mit der Myotonia congenita überein, da auch dort die Enzymaktivität in der Erythrozytenmembran erhöht ist (**Peter** et al. 1975).

Caccia (1975) konnte am denervierten Säugetiermuskel nach 20,25-DAC keine Myotonie induzieren. Diskutiert wird als Voraussetzung für die Induktion der Myotonie die Intaktheit des neuromuskulären Systems.

Wie bei Myotoniepatienten war bei der Myotonie nach 25-Azacholesterin im EMG am Rattenmuskel ein vorübergehender reversibler Amplitudenabfall des Muskelaktionspotentials nachweisbar (**Mrożek** und **Kwieciński** 1975). Der Abfall des Potentials ist kein Effekt einer verminderten Transmitterausschüttung wie bei der Myasthenia gravis, sondern Ausdruck einer Störung der myotonen Muskelmembran selbst.

Einen Hinweis für verminderte Calciumbindungskapazität im sarkoplasmatischen Retikulum der Rattenmuskulatur nach Diazacholesterin gaben **Niebrój-Dobosz** et al. (1976c) auf Grund einer erhöhten Ca^{++} -Mg^{++} -ATPase-Grundaktivität in diesem System. Ob diese Störung primär mit der myotonen Störung in Zusammenhang steht, oder ob dies nur ein sekundärer Effekt ist, konnte nicht entschieden werden.

Die schon früher gezeigten Ähnlichkeiten der Myotonie nach 20,25-DAC bei der Ratte mit der myotonen Dystrophie wurden noch dadurch unterstützt, daß bei beiden eine selektive Atrophie der Typ-I-Fasern gefunden wurde (**Niebrój-Dobosz** et al. 1976a).

3. Chloridfreies Medium

Seit etwa 1960 ist bekannt, daß die Skeletmuskelfaser eine hohe Chloridleitfähigkeit besitzt. Sowohl am Froschmuskel (**Hutter** und **Noble** 1960; **Falk** und **Landa** 1960) wie am Säugetiermuskel (**Lüllmann** 1961) konnten durch Einzelreize repetitive Entladungen in einem Medium, in dem Chloridionen durch impermeable Anionen

ersetzt waren, nachgewiesen werden.

Bryant (1962) zeigte einige charakteristische Übereinstimmungen zwischen Muskelfasern von normalen Ziegen in chloridfreien Medium und Fasern von myotonen Ziegen in Ringerlösung, was zum erstenmal Anlaß zur Hypothese gab, daß der Basisdefekt der Myotonie eine erniedrigte Chloridleitfähigkeit ist.

Typische myotone Phänomene, wie verlangsamte Erschlaffung und repetitive Nachaktivität am Rattenzwerchfell wurden erstmals durch Ersatz von 70% des extrazellulären Chlorids durch ein impermeables Anion von **Rüdel** und **Senges** (1972c) produziert.

Die gleiche kumulative Nachdepolarisation auf Aktivität hin wie die Fasern von myotonen Rattenzwerchfellfasern nach 2,4-D (**Rüdel** und **Keller** 1975) zeigten sowohl Fasern von myotonen Ziegen wie Fasern von normalen Ziegen in chloridfreier Lösung (**Adrian** und **Bryant** 1974).

Auch an einer Modellmuskelfaser konnte eine theoretische Reduktion der Chloridleitfähigkeit repetitive Aktionspotentiale auslösen. Hier zeigte sich ebenfalls, daß die Chloridleitfähigkeit anscheinend die Faser bei wiederholter Reizung stabilisiert und ihre Abwesenheit eine wesentliche Bedingung für myotones Verhalten zu sein scheint.

III. Methodik

1. Versuchsaufbau

1.1. Narkose

Für die Versuche wurden weibliche Wistar-Ratten verwendet. Das Gewicht betrug 120 bis 200 Gramm. Als Narkose wurde Pentobarbital (Nembutal^{R}) in einer Dosierung von 6 mg pro 100 g Rattengewicht intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden tracheotomiert und über eine Plastikkanüle als Trachealtubus abgesaugt.

Mit einem Tele-Thermometer wurde die Temperatur über eine Sonde rektal gemessen und die Normaltemperatur von 38°C $\pm$ 0,5 mit einer Wärmelampe aufrecht erhalten.

1.2. Indirekte Muskelreizung

Die untersuchten Muskeln, m. extensor digitorum longus und m. triceps surae, wurden indirekt über den n. ischiadicus gereizt. Hierzu wurde der Nerv zwischen seinem Austrittspunkt am foramen ischiadicum maius und der distalen Aufzweigung in den Tibialis- und Peroneusanteil schonend freipräpariert und von seiner bindegewebigen Hülle befreit. Für die Versuche am m. extensor digitorum longus wurde der n. tibialis ungefähr 5 mm nach Abgang vom n. ischiadicus durchtrennt, um die von ihm innervierten Muskeln nicht mitzureizen. Der Nerv wurde in die hakenförmigen freien Enden der

im übrigen isolierten, chlorierten Silberdrahtelektroden gelegt. Diese hatten einen Abstand von mindestens 5mm voneinander. Um Kriechströme zwischen den Elektroden zu vermeiden, wurde der dazwischen liegende Nervenanteil mit einer dünnen Paraffinschicht isoliert. Der n. ischiadicus wurde proximal der Reizelektroden durchtrennt. Gereizt wurde bei supramaximaler Reizstärke mit Rechtecksimpulsen einer Impulsdauer von 0,1 ms. Als Kontrolle wurde auch eine direkte Muskelreizung mit chlorierten Metallelektroden, die in guten Kontakt mit dem Muskel gebracht wurden, durchgeführt. Da sich kein Unterschied zur indirekten Reizung ergab, wurde zur Schonung der Muskeln im weiteren Verlauf der Versuche die indirekte Methode beibehalten.

1.3. Isometrische Kraftmessung

Die Sehnen des m. triceps surae und m. ext. dig. longus wurden freipräpariert und starr mit einem Dehnungsmeßstreifen (U-Gage Shinkok, Typ UT, Kraftbereich $\pm$ 20 N)verbunden. Das Kniegelenk wurde starr fixiert. Das Signal des Dehnungsstreifens wurde über einen Tektronix^{R}-Verstärker auf ein Tektronix^{R}-Oszilloskop übertragen und auf Magnetband gespeichert.

Für die isometrischen Kontraktionen wurden die zu untersuchenden Muskeln vorgespannt. Die optimale Vorspannung war dann erreicht, wenn bei supramaximaler Reizstärke trotz Erhöhung der Vorspannung die isometrische Kraft nicht mehr zunahm. Sie wurde bei jedem Versuchstier ermittelt und betrug 10 bis 15% der Kontraktionskraft bei Einzelreizen.

1.4. Elektromyogramm

Zur extrazellulären Ableitung der Muskelaktionspotentiale wurden konzentrische Nadelelektroden der herkömmlichen Art benutzt (Disa; Durchmesser: 0,3 mm; Länge: 20 mm).

Über zwei dieser Nadelelektroden wurden mit einer hohen und einer niedrigen Verstärkung die Muskelpotentiale abgeleitet. Mit niedriger Verstärkung (V: 3mV/Div) wurden die Summenpotentiale in ihrer Gesamthöhe registriert, mit hoher Verstärkung (V: 0,1mV/Div) die myotonen Entladungen.

2. Verwendete Substanzen

Die Myotonie wurde durch Clofibrinsäure, 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure und 20,25-Diazacholesterin induziert. Um einen hohen Myotoniegrad zu erzeugen, wurden hohe Dosierungen, die im toxischen Bereich waren, verwendet.

2.1. Clofibrinsäure
(Bezug: ICI-Pharma, Plankstadt)

Das Natriumsalz der Säure wurde in Aqua dest. gelöst. Der pH lag bei 7,4. Die Dosierungen betrugen 1000 mg/kg und 400 mg/kg i.v. Die Konzentrationen wurden so angesetzt, daß maximal 0,5 bis 1 ml in die vena iugularis injiziert wurde. Dies geschah langsam über einen Zeitraum von mindestens 5 Minuten.

2.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (=2,4-D)
(Bezug: Serva-Feinbiochemica, Heidelberg)

Die Substanz wurde in der Dosierung von 200 mg/kg i.v. injiziert. Hierzu wurde das Natriumsalz mit 1 N NaoH hergestellt und der pH-Wert mit 0,1 N HCl auf pH = 7,4 eingestellt.

2.3. 20,25-Diazacholesterin (=20,25-DAC)
(Bezug: Searle & Co., Chicago, Illinois)

Das Cholesterinderivat wurde in Aqua dest. gelöst und oral, intraperitoneal oder subkutan 6 bis 8 Wochen lang appliziert. Die einzelnen Dosierungen und die Applikationsdauer sind in Tabelle 1 angegeben.

3. Versuchsdurchführung

Aus Vorversuchen ergab sich sowohl für den m. triceps surae wie für den m. ext. dig. longus der Ratte als optimale Reizfrequenz für tetanische Reizungen 80/s. Bei dieser Frequenz ist der Tetanus komplett, stellt also die maximale Muskelkraft dar und kann über die Dauer von 2 bis 3 Sekunden ohne wesentliche Ermüdung aufrecht erhalten werden.

3.1. Versuche mit Clofibrinsäure i.v.

Die Versuche mit Clofibrinsäure wurden am m. triceps surae durchgeführt. Zu Beginn der Versuche wurde vor Clofibrinsäuregabe der Muskel als Kontrolle mit Einzelreizen der Frequenz von 1/s und zwei tetanischen Reizungen der Reizdauer von 2 Sekunden, die im Abstand von 4 bis 6 Sekunden hintereinander gesetzt wurden, gereizt.

Zwei Dosierungen wurden verwendet. Bei 7 der 12 Versuche nach 1000 mg/kg wurde 5 bis 7 Minuten nach Gabe der Clofibrinsäure der Muskel mit einer Serienreizung von 1/s stimuliert. Bei allen 12 Versuchen wurden Tetani einer Reizdauer von 2s, 1s und 0,4s gesetzt. Vorversuche zeigten, daß nach Clofibrinsäure beim 0,4s-Tetanus eine deutlich ausgeprägte Relaxationsverlangsamung bestand. Er sollte den Myotoniegrad aufzeigen. Der 2s-Tetanus und der 1s-Tetanus sollten zeigen, ob eine vorübergehende Lähmungsphase auftritt. Die Serienreizung von 1/s sollte ebenfalls einen Eindruck vom Schweregrad der Myotonie geben. Zusätzlich zum Reizprogramm wurde bei einigen Versuchen mit einer Serienreizung von 10/s und tetanischen Reizen der Reizdauer von 0,2s gereizt.

Bei den Versuchen mit der Dosierung von 400 mg/kg wurde der Muskel mit einer Serienreizung von 1/s und tetanischen Reizen einer Reizdauer von 2s, 1s und 0,4s stimuliert.

Zusätzlich zum Reizprogramm wurde bei einigen Versuchen mit einer Serienreizung von 4/s gereizt. Zwischen allen Reizungen wurde eine Muskelruhe von 15 Minuten eingehalten.

3.2. Versuche mit 2,4-D i.v.

Die Versuche wurden am m. extensor digitorum longus durchgeführt. Als Kontrolle diente eine Serienreizung von 1/s und ein 2s-Tetanus. Nach 200 mg/kg 2,4-D i.v. sollte mit einer Serienreizung von 1/s der Myotoniegrad aufgezeigt werden. Das Auftreten einer vorübergehenden Lähmungsphase sollten 2s-Tetani zeigen.

3.3. Versuche mit 20,25-DAC

Die Versuche wurden am m. extensor dig. longus, teilweise auch zusätzlich am m. triceps surae vorgenommen. Auch hier sollte mit Serienreizungen von 1/s und 4/s der Grad der Myotonie und mit Tetanusreizen von 2s eine vorübergehende Lähmung erfaßt werden.

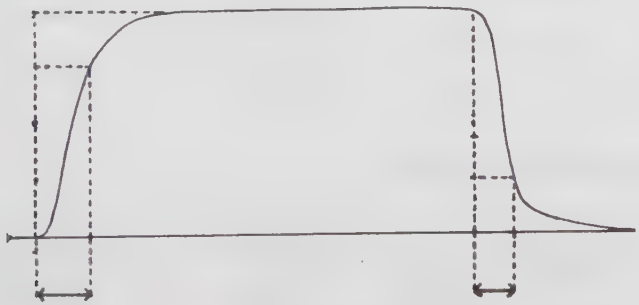
Zwischen sämtlichen Reizungen wurde bei allen Versuchen jeweils eine Reizpause von 15 Minuten eingehalten. In Tabelle 1 sind zusammenfassend die Dosierungen der Substanzen, der untersuchte Muskel und die Anzahl der Versuche aufgeführt.

4. Auswertung

Relaxationszeit:

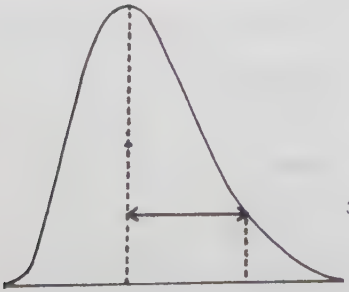
Die Relaxationszeit der Einzelreize und der Tetanusreize der verschiedenen Reizdauer des myotonen Muskels wurde ermittelt und die Werte mit den Kontrollen verglichen. Als Maß für die Relaxationszeit wurde die Zeit bis zur 3/4-Relaxation (3/4-Relaxationszeit) ausgemessen. (Schema 1).

Schema 1



3/4 Anstiegssteilheit

3/4-Relaxationszeit



3/4-Relaxationszeit

Tabelle 1

Clofibrinsäure

Dosis	Applikation	unter-suchter Muskel	Anzahl d. Versuche
1000 mg/kg	i.v.	Triceps	12
400 mg/kg	i.v.	surae	6

2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

Dosis	Applikation	unter-suchter Muskel	Anzahl d. Versuche
200 mg/kg	i.v.	Extensor	7

20,25-Diazacholesterin (20,25-DAC)

Dosis	Applikation	Behand-lungs-dauer	unter-suchter Muskel	Anzahl d. Versuche
50 mg/kg	oral,tägl.	50 Tage	Extensor	5
150 mg/kg		40 Tage		6
5 mg/kg	i.p.jeden 4. Tag	40 Tage	Extensor	8
25 mg/kg	i.p. jeden 4. Tag	40 Tage		6
60 mg/kg	ip. jeden 4. Tag	60 Tage	plus	5
0,15 mg/kg	s.c.tägl.	60 Tage	Triceps	8
1000 mg/kg	oral,einmalig	-------	Extensor	3

Anstiegssteilheit:

Bei den Tetanusreizen wurde die 3/4-Anstiegssteilheit ermittelt. Dazu wurde diejenige Zeit ausgemessen, die bis zum Erreichen von 3/4 der maximalen tetanischen Kraft verstreicht. Die Werte beim myotonen Muskel wurden mit den Kontrollen verglichen (Schema 1)

Isometrische Kontraktionskraft:

Vor den Versuchen wurde der Kraftaufnehmer mit verschiedenen Gewichten geeicht. Mit Hilfe dieser Eichung wurde die isometrische Kontraktionskraft der Einzel- und tetanischen Kontraktionen an Hand der Originalkurven bestimmt. Als Kraftdimension wurde 1 Newton verwendet ($1\ N = 9{,}81\ \frac{kg.m}{s^2}$).

Von allen Meßwerten wurden jeweils der Mittelwert und der mittlere Fehler des Mittelwertes ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) berechnet.

IV. Ergebnisse

1. Myotonie nach Clofibrinsäure i.v.

1.1. Myotonie bei Serienreizung 1/s

1.1.1. Myotone Relaxationsverlangsamung

Die 3/4-Relaxationszeit des unbehandelten m. triceps surae der Ratte betrug im Mittel 20 ms ± 2 (17-23 ms). Abb. 1 zeigt 22 Einzelkontraktionen einer Serienreizung von 1/s (1. Zeile) mit den Summenpotentialen in der EMG-Abteilung (2. Zeile).

Abb.1

Isometrische Einzelkontraktionen des m. triceps surae der unbehandelten Ratte bei einer Serienreizung von 1/s. EMG-Ableitung über konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 3mV/Div)

Etwa 5 bis 7 Minuten nach intravenöser Verabreichung von 1000 mg/kg Clofibrinsäure wurde der Muskel mit der Frequenz von 1/s gereizt. Im Verlauf der Serienreizung setzte als Ausdruck der Myotonie eine reversible Erschlaffungsbehinderung ein (Abb. 2; 1. und 4. Zeile), die im Mittel nach der 9. Kontraktion ihr Maximum erreichte. Die 3/4-Relaxationszeit dieser maximal verlangsamten Erschlaffung betrug durchschnittlich 380 ms $\pm$ 57 (360 - 640 ms). Sie wurde also durch die Myotonie um ungefähr das 19-Fache verlängert. Daran schloß sich die "warm-up-Entwicklung" an, d.h. im Verlauf der weiteren Kontraktionen bildete sich die myotone Störung der Relaxation zurück. Nach etwa 40 Kontraktionen war die Erschlaffung wieder normal und der myotone Muskel befand sich im "warm-up-Zustand". Erst nach einer längeren Muskelruhe konnte wieder eine myotone Reaktion erhalten werden.

Abb. 2

Isometrische Einzelkontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG) bei einer Serienreizung von 1/s. EMG-Ableitung über 2 konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 0,1 mV/Div und 3 mV/Div)

Die myotone Erschlaffungsstörung der Einzelkontraktionen von 1/s nahm bei der niedrigen Dosierung einen prinzipiell ähnlichen Verlauf. Das Maximum der Relaxationsverlangsamung wurde erst später und zwar durchschnittlich mit der 27. Kontraktion erreicht. Die längste 3/4-Erschlaffungszeit dauerte bei dieser Dosierung im Durchschnitt 185 ms $\pm$ 36 (95-360 ms). Sie wurde also um ungefähr das 9-Fache verlängert. Der "warm-up-Zustand" wurde erst nach über 65 Kontraktionen erreicht.

Der Grad der Myotonie bei Einzelkontraktionen kann demnach beschrieben werden durch 1. die maximale 3/4-Relaxationszeit, die im Verlauf der Reizserie erreicht wird; 2. den Zeitpunkt, bei dem die maximale Erschlaffungsstörung erreicht wird und 3. der Anzahl der Kontraktionen bis zum Erreichen des "warm-up-Zustandes".

In allen 3 Punkten bestand eine Dosisabhängigkeit. In Abb. 3 ist der Verlauf der Erschlaffungsbehinderung der Serienreizung von 1/s für beide Dosierungen dargestellt. Sie zeigt die durchschnittliche 3/4-Relaxationszeit der Einzelkontraktionen von 7 Versuchen bei 1000 mg/kg und von 6 Versuchen bei 400 mg/kg Clofibrinsäure i.v.. Daraus wird deutlich, daß 1. die maximale Relaxationsverlangsamung bei der hohen Dosis nicht nur ausgeprägter ist (380 ms $\pm$ 57 gegenüber 185 ms $\pm$ 36 bei der niedrigen Dosis), sondern auch 2. früher auftritt (9. Kontraktion gegenüber 27. Kontraktion bei der niedrigen Dosis) und 3. der "warm-up-Zustand" früher erreicht wird (40 Kontraktionen gegenüber 65 Kontraktionen bei der niedrigen Dosis).

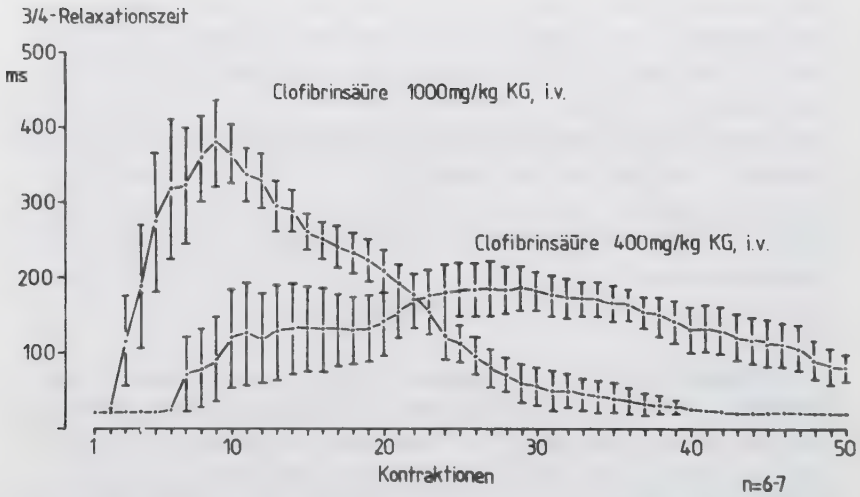


Abb. 3

Durchschnittliche 3/4-Relaxationszeiten der isometrischen Einzelkontraktionen der Serienreizung von 1/s des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG und 400 mg/kg KG).

1.1.2. Isometrische Kontraktionskraft

Die isometrische Kontraktionskraft der Einzelkontraktionen des unbehandelten m. triceps surae der Ratte betrug im Durchschnitt 4,9 N ± 0,3 (3,6 - 6,1 N).

Nach 1000 mg/kg Clofibrinsäureinfusion war die isometrische Kontraktionskraft der 1. Kontraktion der Serienreizung von 1/s um 18,4% auf einen Mittelwert von 4 N ± 0,2 (3-4,8 N) vermindert (Abb. 4; 2. Säule).

Wie in Abb. 1 zu sehen ist, nahm die isometrische Kontraktionskraft im Verlauf der Serienreizung zusammen mit der Relaxationsverlangsamung bis zu einem Maximum zu. Die größte Kontraktion erreichte im Durchschnitt 8,6 N ± 0,5 (7,2 - 10,7 N) und war im Mittel um 75,5% größer als die Ausgangskraft vor Clofibrinsäuregabe (Abb. 4; 4. Säule).

Im Verlauf der "warm-up-Entwicklung" nahm die Kraft zusammen mit der Erschlaffungsstörung wieder ab. Bei den letzten Kontraktionen der Reizserie mit normaler Erschlaffung betrug die isometrische Kontraktionskraft 5,5 N ± 0,2 (4,7 - 6,3 N) und war damit noch um 12,2% größer als die Kontrolle (Abb. 4; 6. Säule).

Nach 400 mg/kg Clofibrinsäure i.v. war die isometrische Kontraktionskraft der 1. Kontraktion ebenfalls vermindert. Mit durchschnittlich 3,6 N ± 0,3 (2,8 - 4,5 N) war sie um durchschnittlich 26,5% kleiner als vor Gabe der Clofibrinsäure (Abb. 4; 3. Säule). Als maximale Kontraktionskraft im Verlauf der Einzelkontraktionen waren im Mittel 6,2 N ± 0,5 (5,4 - 8 N) zu registrieren.

Dies entspricht einer Zunahme von 26,5% gegenüber der Kontrolle (Abb. 4; 5. Säule). Im "warm-up-Zustand" wurden in diesen Fällen mit durchschnittlich 4,9 N $\pm$ 0,2 (4,5 - 5,5 N) der Kontrollwert erreicht (Abb. 4; 7. Säule).

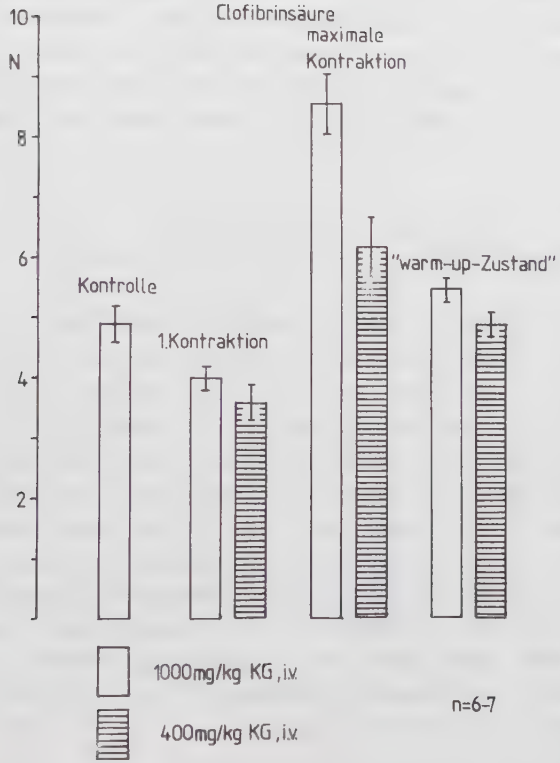


Abb. 4

Isometrische Kontraktionskraft der Einzelkontraktionen der Serienreizung von 1/s des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG und 400 mg/kg KG)im Vergleich zur Kontrolle.

Wie die Mittelwerte für die maximale isometrische Kontraktionskraft, die im Verlauf der Serienreizung von 1/s erreicht wurde, zeigen, bestand auch in diesem Punkt eine Dosisabhängigkeit: Die maximale Kraft nahm bei 1000 mg/kg Clofibrinsäure um 75,5% gegenüber der Kontrolle im Vergleich zu 26,5% bei der niedrigen Dosis.

1.2. Myotonie bei Serienreizung von 10/s und 4/s

Nach 1000 mg/kg Clofibrinsäure wurde bei einigen Versuchen zusätzlich eine Serienreizung von 10/s durchgeführt. Wie die Abb. 5 zeigt, kam es bei dieser Frequenz zu Beginn der Reizserie zu einem kurzfristigen Tetanus. Durch die ausgeprägte Erschlaffungsbehinderung der ersten Kontraktionen traf die jeweils nachfolgende Kontraktion auf Grund der schnellen Reizfolge auf den nicht völlig relaxierten Muskel, woraus durch Summation eine kurzfristige tetanische Kontraktion resultierte. Mit Einsetzen der "warm-up-Entwicklung" bildete sich die hohe Muskelspannung wieder zurück und wurde im "warm-up-Zustand" von Kontraktionen mit normaler Erschlaffung abgelöst.

Nach 400 mg/kg Clofibrinsäure wurde bei einigen Versuchen zusätzlich der Muskel mit einer Reizfrequenz von 4/s stimuliert (Abb.6). Nach den ersten normalen Einzelkontraktionen kam es als Ausdruck der leichten Relaxationsstörung zu einem Ansteigen der Grundspannung des Muskels, der auch hier bei der nächstfolgenden Kontraktion der Muskel nicht vollständig relaxiert war. Das Ansteigen der Grundspannung war hier wesentlich

weniger ausgeprägt durch die geringere myotone Relaxationsverlangsamung und die geringere Reizfrequenz. Mit Einsetzen der "warm-up-Entwicklung" kehrte die Grundspannung des Muskels wieder auf das Ausgangsniveau zurück und im "warm-up-Zustand" resultierten wieder Kontraktionen mit normaler Erschlaffung.

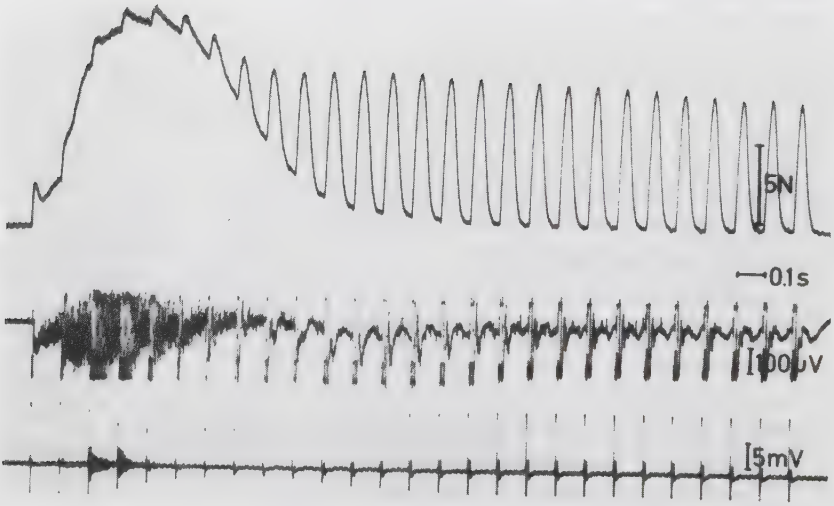


Abb. 5

Isometrische Einzelkontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG) bei einer Serienreizung von 10/s. EMG-Ableitung über 2 konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 0,1 mV/DiV und 3 mV/Div).

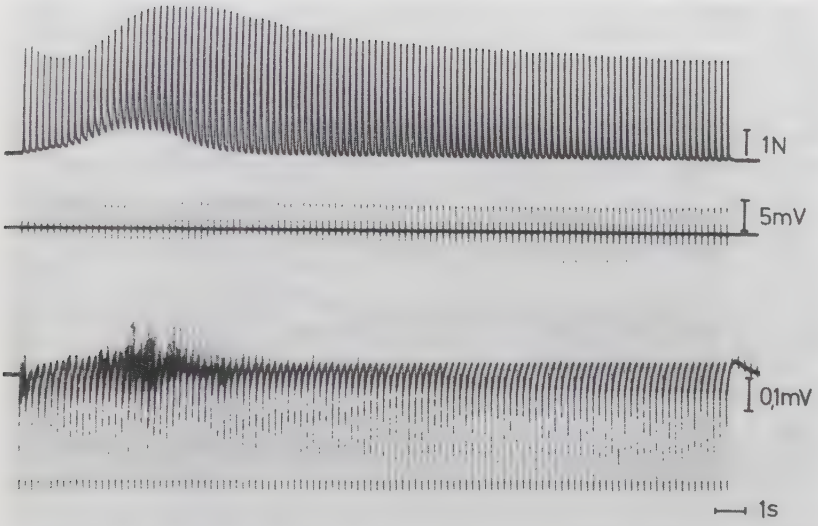


Abb. 6

Isometrische Einzelkontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (400 mg/kg KG) bei einer Serienreizung von 4/s.
EMG-Ableitung über 2 konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 3 mV/Div und 0,1 mV/Div).

1.3. Myotonie bei Tetanusreizen

Wie im Kapitel "Methodik" beschrieben, wurde die Clofibrinsäuremyotonie und die Frage nach einer mit ihr verbundenen "vorübergehenden Lähmungsphase" an Tetanusreizen der Frequenz von 80/s untersucht. Dabei wurde der m. triceps surae mit Tetani der Reizdauer 2s, 1s und 0,4s in dieser Reihenfolge stimuliert. Zwischen den Tetani wurde eine Reizpause von 15 Minuten eingehalten. Bei 6 von 12 Versuchen nach 1000 mg/kg Clofibrinsäure i.v. wurde zusätzlich zum Reizprogramm mit einer Reizdauer von 0,2s stimuliert.

1.3.1. Myotone Relaxationsverlangsamung

Die 3/4-Relaxationszeit des Tetanus betrug vor Gabe der Clofibrinsäure (=Kontrolle) unabhängig von der Reizdauer im Mittel 41 ms $\pm$ 2 (35 - 50).

Nach Clofibrinsäureinfusion von 1000 mg/kg KG konnte beim Tetanus eine von der Reizdauer abhängige Relaxationsverlangsamung registriert werden. Dabei wies der 0,2s-Tetanus mit einer durchschnittlichen 3/4-Relaxationszeit von 588 ms $\pm$ 33 (495 - 715 ms) die größte Erschlaffungsbehinderung auf (Abb. 7; 1. Zeile). Längere Reizung führte zur "warm-up-Entwicklung" d.h. zu einer Rückbildung der Erschlaffungsstörung. Während der 0,4s-Tetanus mit einer durchschnittlichen 3/4-Relaxationszeit von 347 ms $\pm$ 27 (210 - 500 ms) noch eine ausgeprägte Relaxationsbehinderung aufzeigte (Abb. 8; 1. Zeile), konnte beim 1s-Tetanus und ebenso beim 2s-Tetanus keine myotone

Relaxationsverlangsamung mehr registriert werden. Die 3/4-Relaxationszeiten lagen mit 41 ms ± 1 (35 - 50 ms) bzw. 40 ms ± 2 (35 - 50 ms) im Bereich der Kontrolle.

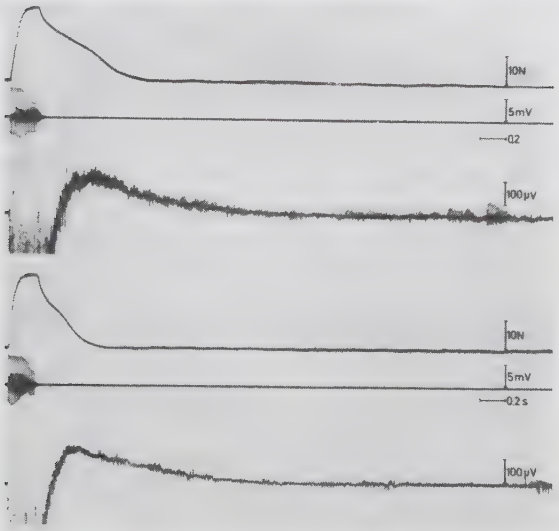


Abb. 7

Isometrische tetanische Kontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG). Reizfrequenz: 80/s, Reizdauer: 0,2s. Die untere tetanische Kontraktion folgte im Abstand von 4-6 Sekunden. EMG-Ableitung über 2 konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 3 mV/Div und 0,1 mV/Div.)

Wie erwähnt, kann der "warm-up-Zustand" durch längere Reizdauer erreicht werden oder wie im folgenden zu erkennen ist, durch die rasche Wiederholung kürzerer tetanischer Reizungen ohne längere Muskelruhe. Die Tetani wurden in einem kurzen zeitlichen Abstand (4-6 Sekunden) unmittelbar nach dem ersten Reiz wiederholt. Wie in Abb. 7 für den 0,2s-Tetanus und in Abb. 8 für den 0,4s-Tetanus zu erkennen ist, war beim zweiten, wiederholten Tetanus die Erschlaffungsbehinderung jeweils deutlich geringer ausgeprägt. Gegenüber 588 ms $\pm$ 33 nach Muskelruhe wies der 0,2s-Tetanus jetzt eine 3/4-Relaxationszeit von durchschnittlich 286 ms $\pm$ 38 (195 - 415 ms) auf, beim 0,4s-Tetanus hat sie von 347 ms $\pm$ 27 auf 118 ms $\pm$ 16 (60 - 180 ms) abgenommen.

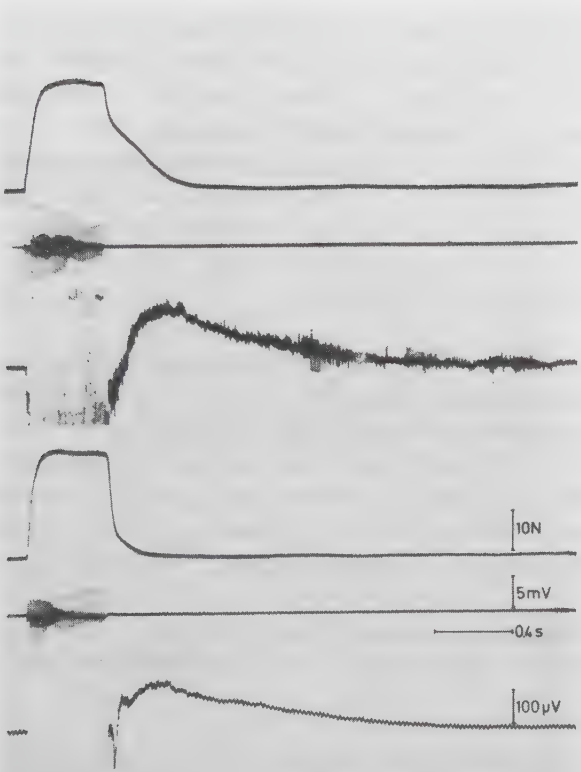


Abb. 8

Isometrische tetanische Kontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG). Reizfrequenz: 80/s, Reizdauer: 0,4s. Die untere tetanische Kontraktion folgte im Abstand von 4-6 Sekunden. EMG-Ableitung über 2 konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 3 mV/Div und 0,1 mV/Div).

Der 1s-Tetanus und der 2s-Tetanus, die beide schon bei der ersten Reizung durch ihre längere Reizdauer im "warm-up-Zustand" waren, hatten dementsprechend auch nach kurzfristiger Wiederholung mit 38 ms ± 2 bzw. 40 ms ± 2 eine normale 3/4-Relaxationszeit. Einen Überblick über die 3/4-Relaxationszeiten sämtlicher Tetani nach 1000 mg/kg Clofibrinsäureinfusion und die Zeiten bei Wiederholung nach 4-6 Sekunden zeigen die rechten Säulen in Abb. 9.

Die myotone Relaxationsverlangsamung des 0,4s-Tetanus war dosisabhängig. Nach 400 mg/kg Clofibrinsäure betrug die 3/4-Relaxationszeit des 0,4s-Tetanus 288 ms ± 38 (140 - 390 ms). Auch bei dieser Dosierung war beim 1s-Tetanus und beim 2s-Tetanus mit einer 3/4-Relaxationszeit von durchschnittlich 41 ms ± 2 (35 - 50 ms) der "warm-up-Zustand" erreicht (Abb. 10; rechte Säulen).

Einen zusammenfassenden Überblick über die 3/4-Relaxationszeiten der Tetani für beide Dosierungen gibt Tabelle 2.

Tetanus-dauer	Dosis: 1000 mg/kg i.v.	Dosis: 1000 mg/kg i.v. bei Wiederholung nach 4-6 s	Dosis: 400 mg/kg i.v.	Kontrolle:
0,2 s	588 ms ± 33	286 ms ± 38	-------	
0,4 s	347 ms ± 27	118 ms ± 16	288 ms ± 38	
1 s	41 ms ± 2	38 ms ± 2	41 ms ± 2	41 ms ± 2
2 s	40 ms ± 2	40 ms ± 2	41 ms ± 2	

Tabelle 2: Mittlere 3/4-Relaxationszeiten nach Clofibrinsäure i.v. (n=6-12)

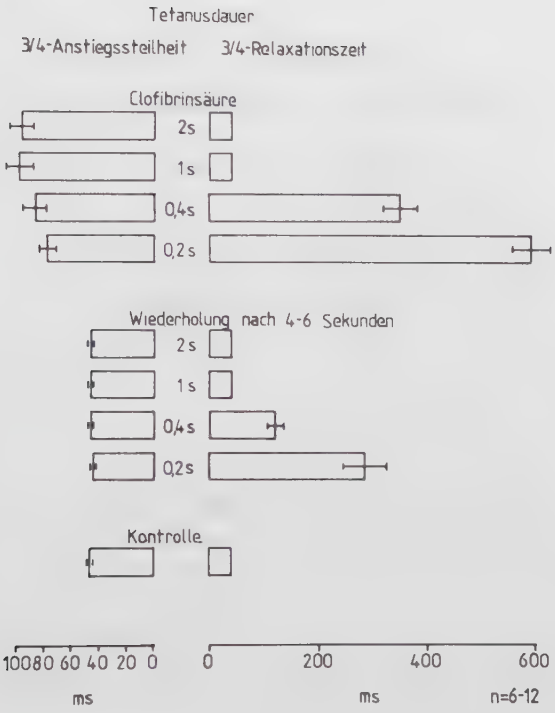


Abb. 9

Durchschnittliche 3/4-Relaxationszeit und 3/4-Anstiegssteilheit der tetanischen Kontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG) und nach Wiederholung des ersten Reizes ohne Muskelruhe 4-6 Sekunden später.

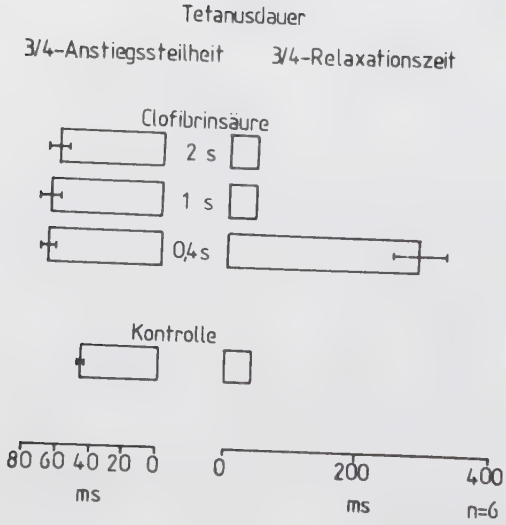


Abb. 10

Durchschnittliche 3/4-Relaxationszeit und 3/4-Anstiegssteilheit der tetanischen Kontraktionen des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (400 mg/kg KG).

1.3.2. Isometrische Kontraktionskraft und Lähmungsphase

Die maximale isometrische Kontraktionskraft des 2s-Tetanus des unbehandelten m. triceps surae betrug im Durchschnitt 20,6 N ± 0,8 (15,5 - 23,9 N).

Nach 1000 mg/kg Clofibrinsäure war die maximale isometrische Kontraktionskraft bei 11 der 12 Versuche vermindert, bei einem Versuch blieb sie unverändert. Im Durchschnitt war sie mit 18,8 N ± 0,7 (14,3 - 21,9 N) um 8,7% kleiner als die Ausgangskraft. Bei dieser Dosierung konnte bei allen 12 Versuchen eine deutliche vorübergehende Lähmungsphase nachgewiesen werden.

In Abb. 11 zeigt die erste Zeile drei Tetani der Reizdauer 2s, 1s und 0,4s des unbehandelten m. triceps surae, die zweite Zeile zeigt die gleichen Tetani nach Clofibrinsäureinfusion. Wie beim 2s-Tetanus zu erkennen ist, sank die Kraft am myotonen Muskel während der Reizung vorübergehend ab und erreichte dann fast wieder das Ausgangsniveau. Am tiefsten Punkt der Lähmungsphase betrug die Kontraktionskraft im Mittel 14,7 N ± 0,7 (10,6 - 18,8 N). Die Kontraktionskraft sank also um durchschnittlich 21,7 % ± 3 (9 - 43%) vorübergehend ab (=Lähmungsgrad).

Wie der Abb. 11 zu entnehmen ist, war zum Zeitpunkt der maximalen Lähmung beim 1s-Tetanus keine myotone Relaxationsverlangsamung mehr nachweisbar. Der myotone Muskel war also in Bezug auf die Erschlaffung bereits im "warm-up-Zustand", während der 15 Minuten später gereizte 0,4s-Tetanus die oben beschriebene deutlich

ausgeprägte Relaxationsverlangsamung zeigte.

Auch bei der Lähmungsphase konnte ein "warm-up-Phänomen" beobachtet werden, das sich darin zeigte, daß der Zeitpunkt der maximalen Lähmung deutlich früher auftrat. In Abb. 12 zeigt der mittlere Tetanus den 2s-Tetanus des myotonen Muskels nach 1000 mg/kg Clofibrinsäureinfusion mit (bei diesem Beispiel nur gering ausgeprägter) Lähmungsphase im Vergleich zum 2s-Tetanus vor Clofibrinsäuregabe (1. Zeile). Das Lähmungsmaximum lag im Mittel bei 0,9s $\pm$ 0,06 (0,7 - 1,2s). Bei Wiederholung des Tetanus in kurzem zeitlichen Abstand von 4-6 Sekunden trat das Lähmungsmaximum deutlich früher auf (5.Zeile). Im Durchschnitt trat es hier schon nach 0,5 + 0,04 (0,4 - 0,8s) auf.

Die vorübergehende Lähmungsphase konnte bei der Dosierung von 400 mg/kg KG Clofibrinsäure in keinem Versuch nachgewiesen werden und war damit vom Myotoniegrad abhängig.

1.3.3. Beziehung zwischen myotoner Relaxationsverlangsamung und Lähmungsgrad

Trotz konstanter Clofibrinsäureinfusion von 1000 mg/kg war die Ausprägung der Myotonie nicht bei allen Tieren gleich. Als Parameter für den Myotoniegrad des Muskels wurde die myoton verlangsamte 3/4-Relaxationszeit des 0,4s-Tetanus, die oben beschrieben wurde mit dem Lähmungsgrad des 2s-Tetanus des gleichen Muskels in Beziehung gesetzt. Dabei ergab sich eine positive Korrelation (Abb. 13). Mit Zunahme des Schweregrades

der Myotonie stieg der Lähmungsgrad an. Der Korrelationskoeffizient betrug 0,795 (Gleichung der Regressionsgeraden: $y = -9,82 + 0,094x$; y= Lähmungsgrad; x= Myotoniegrad)-

Einen zusammenfassenden Überblick über die isometrische Kontraktionskraft des 2s-Tetanus, Kraftabnahme, Lähmungsgrad und Myotoniegrad bei den einzelnen Versuchen gibt Tabelle 3.

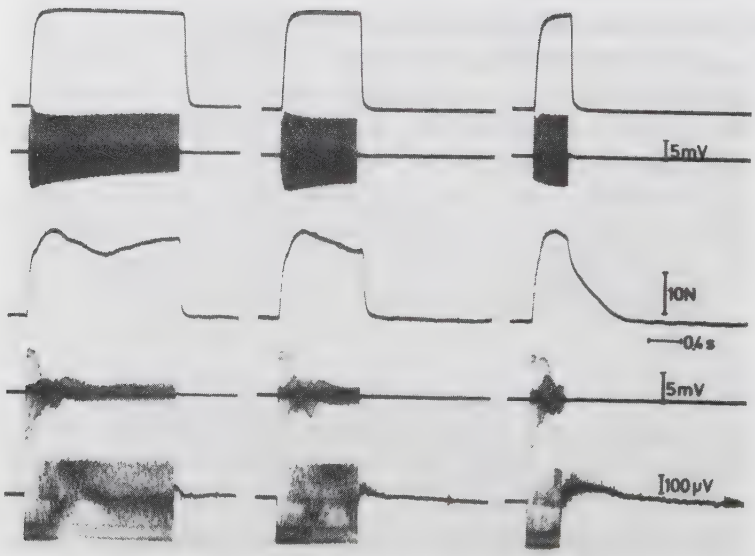


Abb. 11

Isometrische tetanische Kontraktionen des m. triceps surae der Ratte unbehandelt und nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG). Reizfrequenz: 80/s, Reizdauer: 2s, 1s und 0,4s. EMG-Ableitung über 2 konz. Nadelelektroden (Verstärkung: 3 mV/Div und 0,1 mV/Div).

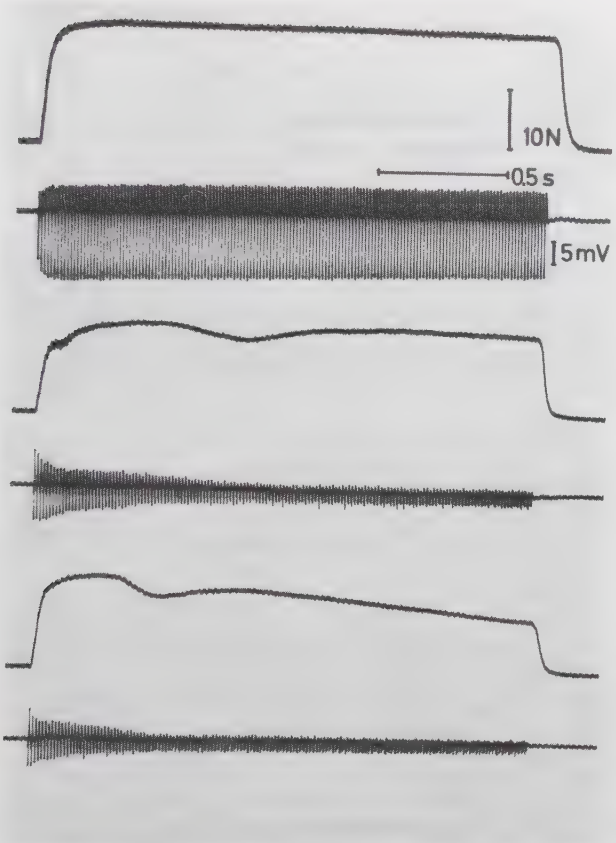


Abb. 12

"warm-up-Phänomen" der vorübergehenden Lähmungsphase. Isometrische tetanische Kontraktionen des unbehandelten m. triceps surae der Ratte und nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG). Die unterste tetanische Kontraktion folgte im Abstand von 4-6 Sekunden. EMG-Ableitung über konz. Nadelelektrode (Verstärkung: 3 mV/Div).

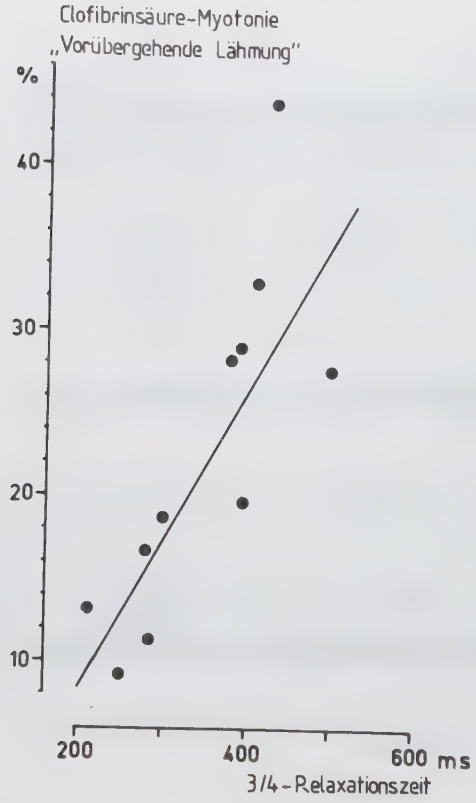


Abb. 13

Beziehung zwischen dem Schweregrad der vorübergehenden Lähmungsphase bei der Myotonie nach 1000 mg/kg KG Clofibrinsäure und der 3/4-Relaxationszeit des 0,4s-Tetanus

Versuch	max. Kraft unbehandelt	max. Kraft nach Clofibrinsäure 1g/kg i.v.	rel. Kraftabnahme nach Clofibrinsäure 1g/kg i.v.	Kraft im Max. der Lähmungsphase	rel. Kraftabnahme während Lähmungsphase (=Lähmungsgrad)	Grad der Myotonie =3/4-Relaxationszeit des 0,4-sTetanus
7	20,8 N	18,8 N	9,6 %	10,6 N	43,6 %	430 ms
2	23,9 N	21,9 N	8,4 %	14,7 N	32,9 %	410 ms
4	21,9 N	20,1 N	8,2 %	14,3 N	28,9 %	390 ms
1	19,8 N	18,8 N	5,1 %	13,5 N	28,2 %	380 ms
5	15,5 N	15,5 N	0 %	11,3 N	27,1 %	500 ms
10	23,9 N	20,3 N	15,1 %	16,4 N	19,2 %	395 ms
6	20,8 N	20,1 N	3,4 %	16,4 N	18,4 %	300 ms
9	21,9 N	19,5 N	11,0 %	16,2 N	16,9 %	280 ms
8	17,1 N	14,3 N	16,4 %	12,5 N	12,6 %	210 ms
3	19,5 N	16,2 N	16,9 %	14,2 N	12,4 %	------
12	23,2 N	21,2 N	8,6 %	18,8 N	11,3 %	275 ms
11	19,1 N	18,8 N	1,6 %	17,1 N	9,0 %	250 ms
Mittelwert:	20,6 N ± 0,8	18,8 N ± 0,7	8,7 % ± 1,4	14,7 N ± 0,7	21,7 % ± 3	347 ms ± 27

Tabelle 3

1.3.4. Verlangsamung der Anstiegssteilheit

Die 3/4-Anstiegssteilheit des Tetanus betrug vor Clofibrinsäuregabe im Mittel 46 ms ± 1 (40 - 50 ms).

Bei der Dosierung von 1000 mg/kg Clofibrinsäure war die Anstiegssteilheit sämtlicher Tetani verlangsamt. Im Durchschnitt betrug sie 90 ms ± 6 (60 - 150 ms) und war somit um 95,6% gegenüber der Kontrolle verlangsamt. Für den 0,2s-, 0,4s-, 1s und 2s-Tetanus sind die mittleren Werte der 3/4-Anstiegssteilheit in Abb. 9 (linke Säulen) dargestellt. Die Abb. 14 zeigt die verlangsamte Anstiegssteilheit am Beispiel des 0,4s-Tetanus.

Wie die Abb. 14 weiterhin zeigt, war auch für die verlangsamte Anstiegssteilheit das "warm-up-Phänomen" nachweisbar. Bei Wiederholung des Tetanus nach 4 bis 6 Sekunden waren die Zeiten für die 3/4-Anstiegssteilheit bei allen Tetani mit durchschnittlich 46 ms ± 2 (40 - 55 ms) im Bereich der Kontrolle (Abb. 9).

Bei der Dosierung von 400 mg/kg Clofibrinsäure war die 3/4-Anstiegssteilheit aller Tetani um 41,3% auf 65 ms ± 4 (45 - 80 ms) verlangsamt. (Abb. 10; linke Säulen). Die Verlangsamung in der Anstiegssteilheit des Tetanus war somit dosisabhängig und damit auch vom Schweregrad der Myotonie abhängig.

Einen zusammenfassenden Überblick über die mittleren Werte der 3/4-Anstiegssteilheit gibt Tabelle 4.

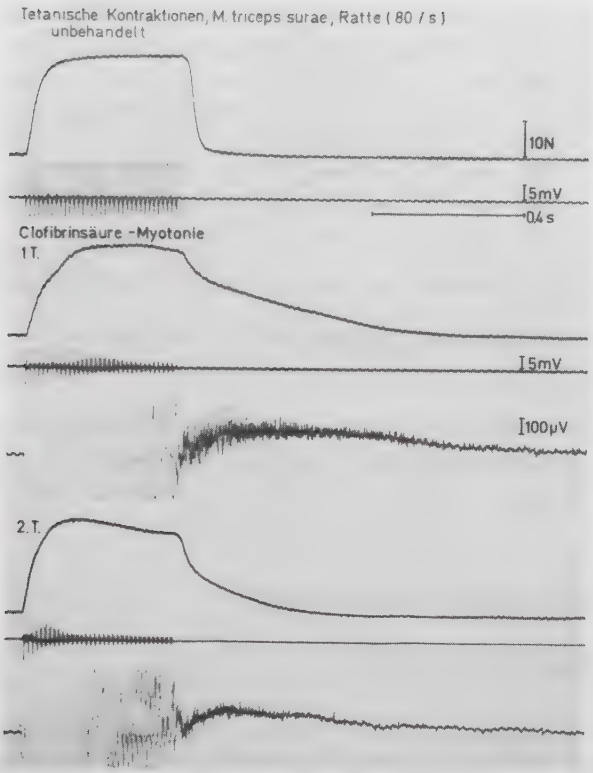


Abb. 14

"warm-up-Phänomen" der verlangsamten Anstiegssteilheit. Isometrische tetanische Kontraktion des unbehandelten m. triceps surae der Ratte und nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG). Die unterste Kontraktion folgte im Abstand von 4-6 Sekunden. EMG-Ableitung über konz. Nadelelektroden (Verstärkung:3 mV/Div und 0,1 mV/Div)

Tetanus-dauer	Dosis: 1000 mg/kg i.v.	Dosis: 1000 mg/kg i.v. bei Wiederholung nach 4-6 s	Dosis: 400 mg/kg i.v.	Kontrolle
0,2 s	78 ms ± 6	44 ms ± 2	-------	46 ms ± 1
0,4 s	87 ms ± 8	46 ms ± 2	67 ms ± 4	
1 s	98 ms ± 9	46 ms ± 2	66 ms ± 6	
2 s	96 ms ± 8	46 ms ± 1	62 ms ± 6	
Mittel-wert:	90 ms ± 6	46 ms ± 2	65 ms ± 4	

Tabelle 4: Durchschnittliche 3/4-Anstiegssteilheit nach Clofibrinsäure i.v. (n=6-12).

1.4. Elektromyographische Befunde

1.4.1. Summenpotentiale

Bei den Serienreizungen konnte nach Clofibrinsäureinfusion keine wesentliche Veränderung am Summenpotential festgestellt werden.

Bei den Tetani nach 1000 mg/kg Clofibrinsäure i.v. nahm die Amplitude des Aktionspotentials kontinuierlich ab, wie in Abb. 7 und 8 (2. und 5. Zeile), in Abb. 11 (4. Zeile) sowie in Abb. 12 (4. und 6. Zeile) zu erkennen ist. In Abb. 15 wurde der Verlauf des Summenpotentials beim 2s-Tetanus nach 1000 mg/kg Clofibrinsäure

i.v. im Vergleich zur Kontrolle dargestellt. Die Amplitude zu Beginn der Reizung wurde gleich 100% gesetzt. Während die Amplitude am Ende der Reizung bei der Kontrolle im Mittel noch 84% des Ausgangswertes betrug, war beim myotonen Tetanus im Mittel nur noch 26% der Ausgangsamplitude zu registrieren.

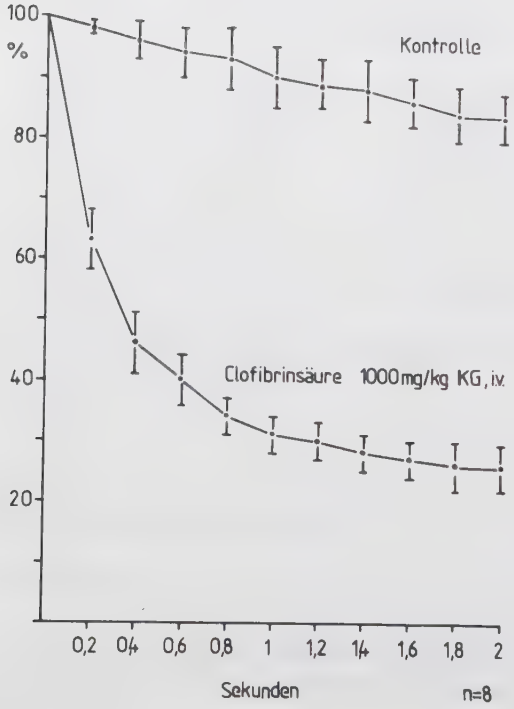


Abb. 15

Amplitudenänderung des Muskelaktionspotentials gegenüber der Höhe der Anfangsamplitude (100%) bei tetanischer Reizung des m. triceps surae der Ratte vor und nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG). Reizfrequenz: 80/s, Reizdauer: 2 s.

1.4.2. Myotone Nachaktivität

Bereits während der langsamen Injektion von 1000 mg/kg Clofibrinsäure waren durch Nadelbewegung oder Beklopfen des Muskels Entladungen im EMG auslösbar. Die myotonen Muskelentladungen konnten im Lautsprecher als das charakteristische "Sturzkampfbombengeräusch" erkannt werden.

Bei der Serienreizung von 1/s nahmen die myotonen "bursts" zunächst mit steigender Relaxationsverlangsamung zu (Abb. 2, 2. Zeile). Im Maximum der Relaxationsverlangsamung waren sie jedoch schon wieder leicht vermindert und mit Erreichen des "warm-up-Zustandes" konnten sie nicht mehr registriert werden. Abb. 16 zeigt 4 Einzelkontraktionen aus der Reizserie in Abb. 2. Wie zu erkennen ist, hat im Maximum der Relaxationsverlangsamung (Bild 3 in Abb. 16) die myotone Nachaktivität bereits deutlich abgenommen.

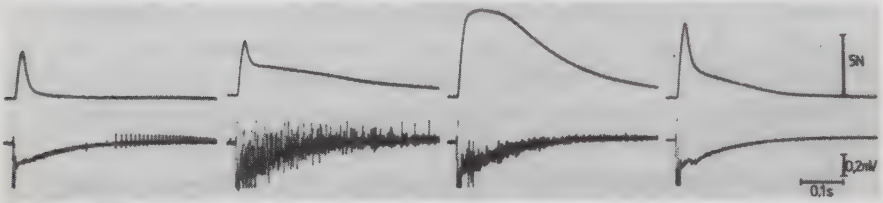


Abb. 16

4 isometrische Einzelkontraktionen aus der Serienreizung von 1/s des m. triceps surae der Ratte nach intravenöser Clofibrinsäureinfusion (1000 mg/kg KG) aus Abb. 2. EMG-Ableitung über konz. Nadelelektrode (Verstärkung: 0,1 mV/Div)

Bei den Tetani, die eine myotone Erschlaffungsbehinderung aufwiesen (0,2s- und 0,4 s-Tetanus) war eine ausgeprägte myotone Nachaktivität nachweisbar (Abb. 7 und 8; 3. Zeile). Nach Wiederholung des Tetanus 4-6 Sekunden später war die myotone Nachaktivität zusammen mit der Relaxationsverlangsamung deutlich vermindert (Abb. 7 und Abb. 8; 6. Zeile). Beim 1s-Tetanus, zum Zeitpunkt der maximalen Lähmungsphase, konnte weder eine Relaxationsstörung noch myotone Nachaktivität gefunden werden, der myotone Muskel befand sich im vollständigen "warm-up-Zustand" (Abb. 11, 5. Zeile). Ebenso konnte aus diesem Grund auch beim 2s-Tetanus keine myotone Nachaktivität nachgewiesen werden (Abb. 11, 5. Zeile).

2. Myotonie nach 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

2.1. Myotone Relaxationsverlangsamung

Die 3/4-Relaxationszeit der Einzelkontraktionen des unbehandelten m. extensor digitorum longus der Ratte betrug im Mittel 17 ms $\pm$ 2 (10 - 20 ms). Nach 200 mg/kg 2,4-D zeigten die Tiere erst 2 bis 5 Stunden nach i.v.-Applikation bei der Serienreizung von 1/s eine deutliche Relaxationsverlangsamung, die einen prinzipiell ähnlichen Verlauf nahm wie bei der Myotonie nach Clofibrinsäure. Auch hier wurde nach durchschnittlich 16 Kontraktionen eine maximale 3/4-Relaxationszeit von 209 ms $\pm$ 20 (180 - 310 ms) im Verlauf der Reizserie erreicht, was einer Verlängerung um das 12-Fache entspricht.

Hier setzte die "warm-up-Entwicklung" ein, nach etwa 60 Kontraktionen war die Erschlaffung wieder normal.

2.2. Isometrische Kontraktionskraft

Die isometrische Kontraktionskraft der Einzelkontraktionen des unbehandelten m. extensor dig. longus betrug im Mittel 0,52 N ± 0,04 (0,39 - 0,85 N). Nach 2,4-D-Gabe war die erste Kontraktion mit 0,4 N ± 0,06 (0,16 - 0,66 N) um durchschnittlich 23% vermindert. Im Laufe der Serienreizung von 1/s nahm wie bei der Clofibrinsäure mit der Erschlaffungsbehinderung auch die Kontraktionskraft bis zu einem Maximum zu. Die maximale Kraft betrug 0,63 N ± 0,08 (0,4 - 1,04 N) und war damit um durchschnittlich 21% größer als die Kontrolle. Im "warm-up-Zustand" war die Kontraktionskraft mit 0,4 N ± 0,06 (0,22 - 0,73) um 23% kleiner als der Kontrollwert.

Die isometrische tetanische Kontraktionskraft des unbehandelten m. extensor dig. longus betrug 2,1 N ± 0,2 (1,68 - 3,02 N). Nach 2,4-D war sie um durchschnittlich 19% auf 1,7 N ± 0,2 (0,7 - 2,64 N) reduziert.

Eine vorübergehende Lähmungsphase konnte nach 2,4 -D bei keinem der 7 Versuche beobachtet werden.

3. "Myotonie" nach 20,25-Diazacholesterin (=20,25-DAC)

Nach chronischer Applikation von 20,25-DAC zeigten die Tiere bei den hohen Konzentrationen (50 mg/kg oral; 150 mg/kg oral und 60 mg/kg i.p.) nach 6-8 Wochen einen reduzierten Allgemeinzustand. Das Fell dieser Tiere war im Vergleich zu den Kontrolltieren struppig und matt, die spontanen Bewegungen waren vermindert.

Obwohl verschiedene Dosierungen mit verschiedenen Applikationsarten auf ihre myotone Wirksamkeit hin untersucht wurden (Einzelheiten sind im Kapitel "Methodik" in Tabelle 1 angegeben) konnte nur bei 2 Versuchen der Dosierung 50 mg/kg oral nach 50-tägiger Behandlung Zeichen von Myotonie gefunden werden. Im Verlauf der Serienreizung von 1/s trat eine leichte myotone Relaxationsverlangsamung auf, die ihr Maximum nach 80 bzw. 100 Sekunden erreichte. Die 3/4-Relaxationszeit war maximal auf das Doppelte der normalen Relaxationszeit des m. extensor dig. longus verlangsamt (40 ms bzw. 30 ms). Bei der Reizfrequenz von 4/s war das Maximum der Erschlaffungsbehinderung nach 48 bzw. 50 ms erreicht mit einer 3/4-Relaxationszeit von 40 bzw. 50 ms. Dabei waren Entladungsserien zu registrieren, die mit Erreichen des "warm-up-Zustandes" wieder verschwanden.

Bei keinem der anderen Versuche nach 20,25-DAC konnte eine myotone Erschlaffungsstörung oder myotone Nachaktivität im EMG nachgewiesen werden.

Eine vorübergehende Lähmungsphase konnte nach 20,25 -DAC bei keinem der Versuche gefunden werden.

V. Diskussion

1. Myotonie nach Clofibrinsäure

1.1. Myotonie bei Serienreizung

Experimentelle Myotonie nach Clofibrat beschrieben als erste **Eberstein** und **Goodgold** (1973). Nach i.v. -Applikation von Clofibrat ließen sich bereits nach 2 bis 6 Minuten elektromyographisch typische myotone Entladungsserien nachweisen (**Peter** et al. 1975). Clofibrat wird als Äthylester der p-Chlorphenoxyisobuttersäure =Clofibrinsäure in vivo sofort zur freien Clofibrinsäure hydrolysiert (**Dromgoole** et al. 1975). Als aromatische Monocarbonsäure reduziert die Clofibrinsäure akut die Chloridleitfähigkeit des Sarkolemm, so daß direkt nach intravenöser Gabe die myotonen Symptome nachweisbar sind. Die myotone Muskelfunktionsstörung nach Clofibrinsäureinfusion war dosisabhängig. Die myotone Relaxationsverlangsamung der Einzelkontraktionen von 1/s war umso ausgeprägter, trat umso früher auf und bildete sich umso schneller wieder zurück, d.h. ging in den "warm-up-Zustand" über, je größer die Dosis war. Bei der experimentellen Myotonie war die myotone Relaxationsverlangsamung der Einzelkontraktionen der niedrigen Reizfrequenz von 1/s wesentlich ausgeprägter als bei der Myotonia congenita. **Ricker** et al. (1973) hatten bei einer schweren Form der Myotonia congenita am m. adductor pollicis bei einer Reizfrequenz von 3/s nur einen kurzfristigen Anstieg der Grundspannung des Muskels beobachtet, was völlig den Befunden bei der Myotonie nach der niedrigen Clofibrinsäuredosis entspricht. Hier kam es bei der Reizfrequenz von

4/s ebenfalls zu einem kurzfristigen Anstieg der Grundspannung des Muskels dadurch, daß die Muskelfaser beim nächsteintreffenden Reiz nicht vollständig wieder relaxiert ist. Bei der hohen Clofibrinsäuredosis nahm dagegen die 3/4-Relaxationszeit bei 1/s auf das 19-Fache des Normalwertes zu. Eine ähnlich schwere Störung der Relaxation konnte bei einem Patienten mit "Paramyotonie mit Myotonie" nachgewiesen werden. Vergleichbare Befunde bei der Myotonie wurden bisher nicht beschrieben. Die mechanographischen Ergebnisse der experimentellen Myotonie nach der hohen Dosis der Clofibrinsäure bei der höheren Reizfrequenz von 10/s entsprechen völlig denen der menschlichen Myotonie. (**Ricker** et al. 1973). Bei beiden entwickelt sich zu Beginn der Reizung kurzfristig ein Tetanus durch die zu Beginn der Reizung ausgeprägte Relaxationsstörung und die schnelle Reizfolge. Es kommt zu einem Verschmelzen der ersten Kontraktionen. Die myotone Nachaktivität nahm im Verlauf der Serienreizung von 1/s früher ab als die myotone Relaxationsverlangsamung, so daß mit Sicherheit die myotone Erschlaffungsstörung nicht nur durch die myotone Nachaktivität allein verursacht wird, sondern auch intrazelluläre Mechanismen eine Rolle spielen müssen. Hierfür sprechen Befunde von **Kuhn** und **Stein** (1966), die eine Störung in der Calcium-Aufnahmegeschwindigkeit isolierter Vesikel des sarkoplasmatischen Retikulum fanden, die mit der aromatischen Monocarbonsäure 2,4-D behandelt waren. Die Störung im Calcium-Transport des Muskels könnte als Sekundäreffekt der Chloridkanalblockade durch die Monocarbonsäure auch die ausgeprägte Kraftzunahme der Einzelkontraktionen nach Clofibrinsäure erklären. Dieses Phänomen wurde auch schon bei früheren

Arbeiten bei der experimentellen Myotonie sowohl in vivo (**Eyzaguirre** 1948; **Smith** 1933; **Tang** 1968) als auch in vitro an Zwerchfellpräparaten nach aromatischen Monocarbonsäuren beobachtet (**Tang** 1968; **Senges** und **Rüdel** 1972). Auch in chloridfreien Medium kann das ausgeprägte Ansteigen der Kontraktionskraft beobachtet werden (**Rüdel** und **Senges** 1972 c).

1.2. Myotonie bei Tetanusreizen

Bei den kurzen tetanischen Kontraktionen nach Clofibrinsäure war wie beim Myotoniepatienten eine Relaxationsverlangsamung nachweisbar. Sie war dosisabhängig, wie die 3/4-Relaxationszeit des 0,4s-Tetanus zeigt. Wie bei der Myotonia congenita war das "warm-up-Phänomen" nachweisbar. Nach kurzfristiger Wiederholung des Tetanus ohne längere Muskelruhe war die Relaxationsverlangsamung deutlich weniger ausgeprägt als bei der ersten Kontraktion nach Muskelruhe. Klinisch entspricht dies beim Myotoniepatienten dem "Freiarbeiten" aus der myotonen Steifigkeit durch mehrere kräftige Kontraktionen, bis die Erschlaffungsstörung vollends behoben ist. Andererseits konnte das "warm-up-Phänomen" durch Verlängerung der Reizdauer erreicht werden. Ab einer Reizdauer von 1 Sekunde und länger war der vollständige "warm-up-Zustand" erreicht, der myotone Muskel zeigte jetzt eine normale Erschlaffung. Auch dies entspricht den Befunden beim Myotoniepatienten, bei dem nach genügend langer Kontraktionsdauer keine Relaxationsverlangsamung mehr nachweisbar ist.

1.3. Vorübergehende Lähmungsphase

In der hohen Dosierung ließ sich bei der Clofibrinsäure-induzierten Myotonie eine vorübergehende Lähmung nachweisen, die in ihren Charakteristika der Myotonia congenita entsprach. Der Schweregrad der vorübergehenden Lähmung war dosisabhängig, d.h. er korrelierte mit dem Schweregrad der myotonen Relaxationsstörung. Auch bei der Myotonia congenita hatten von 9 Patienten 4 mit leichten Symptomen keine vorübergehende Muskelschwäche. Hier korrelierte ebenfalls der Schweregrad der Myotonie mit dem Lähmungsgrad (Ricker et al. 1978). Wie bei der Myotonia congenita bestand im Maximum der Lähmung keine myotone Relaxationsverlangsamung und keine myotone Nachaktivität mehr (Ricker et al. 1978), der Muskel war in Bezug auf die Erschlaffung also schon im "warm-up-Zustand". Daß die Lähmungsphase mit Abfall der Muskelkraft nur vorgetäuscht sein könnte durch eine zu Beginn der Reizung erhöhte Kontraktionskraft ähnlich wie bei der Reizfrequenz von 10/s, widerlegt die Tatsache, daß die größte Kraft der tetanischen Kontraktion des myotonen Muskels bei allen Versuchen niedriger war als die Kontraktionskraft vor Clofibrinsäuregabe. Auch bei den Myotoniepatienten war im Vergleich zu gesunden Personen die maximale Kontraktionskraft vermindert (Ricker et al. 1973). Außerdem stellt der Tetanus bei der hohen Frequenz von 80/s die größte Kraft dar, die der Muskel erreichen kann. Die vorübergehende Lähmung zeigte als Hinweis für eine myotone Komponente ein "warm-up-Phänomen." Im Gegensatz zur Myotonia congenita war die chemisch induzierte Myotonie nach Clofibrinsäure

nach dem Ausmaß der myotonen Relaxationsverlangsamung bei den Einzelkontraktionen der niedrigen Frequenz von 1/s stärker ausgeprägt. Dagegen war der Grad der vorübergehenden Lähmung deutlich geringer. Die Lähmung betrug am m.triceps surae der Ratte 9-43% der Anfangsamplitude, an den Unterarm- und Oberarmflexoren bei schwerer Myotonia congenita aber 54-88% (**Ricker** et al. 1978). Diese Diskrepanz könnte durch den Befund von **Kuhn** und **Stein** (1966) erklärt werden, wonach die myotone Relaxationsstörung der aromatischen Monocarbonsäuren zusätzlich auf einer Störung der Calciumaufnahme in das sarkoplasmatische Retikulum beruht. Dadurch wird vielleicht eine ausgeprägtere Lähmungsphase bei der experimentellen Myotonie verhindert. Die Pathogenese der vorübergehenden Lähmung ist unbekannt. Trotz des quantitativen Unterschieds zur Myotonia congenita scheint die vorübergehende Lähmung bei der Clofibrinsäure-induzierten Myotonie als Modell für weitere In-vitro-Untersuchungen zur Pathogenese der Lähmung geeignet zu sein.

1.4. Verlangsamte Anstiegssteilheit

Die verlangsamte Anstiegssteilheit der tetanischen Kontraktionsamplitude war nach Muskelruhe dosisabhängig, also ebenfalls vom Schweregrad der Myotonie abhängig. Sie zeigte deutlich das "warm-up-Phänomen". Im "warm-up-Zustand" war die Anstiegssteilheit normal schnell. Dieses Phänomen ist bisher bei der experimentellen Myotonie in der Literatur noch nicht beschrieben

worden. Bei der Myotonia congenita ist es ebenfalls nachweisbar. Die Anstiegssteilheit der Einzelkontraktionen ist weder bei der chemisch induzierten noch bei der menschlichen Myotonie verlangsamt (**Hofmann** 1966). Die Kontraktionshöhe der ersten Einzelkontraktionen war jedoch sowohl bei der Myotonia congenita (**Ricker** et al. 1973) als auch bei der Clofibrinsäure-induzierten Myotonie erniedrigt und erst im "warm-up-Zustand" war die normale Höhe erreicht.

Hofmann (1966) beobachtete bei Intercostalmuskelfasern von Patienten mit Dystrophia myotonica, daß sich nicht alle Fasern auf einen Reiz hin kontrahieren. Im Falle der experimentellen Myotonie könnte die verringerte Kontraktionsamplitude zusätzlich durch einen toxischen Effekt der Monocarbonsäure bedingt sein. Ursächlich könnte für die verlangsamte Anstiegssteilheit der tetanischen Kontraktionen eine Hemmung der Erregbarkeit einzelner myotoner Fasern bei den ersten Kontraktionen verantwortlich sein, wobei die unerregbaren Fasern an der Kraftentwicklung nicht teilnehmen. Ob das Phänomen der verlangsamten Anstiegssteilheit bei genetisch myotonen Ziegen zu finden ist, geht aus den Untersuchungen von **Brown** und Harvey (1939) nicht hervor.

1.5. Elektromyographische Befunde

Wie bei Myotoniepatienten, bei denen eine transitorische Abnahme des Aktionspotentials während der Lähmungsphase zu registrieren war (**Ricker** et al. 1973), ließ sich

bei der experimentellen Myotonie nach Clofibrinsäure ein deutlicher Abfall des Aktionspotentials während des 2s-Tetanus feststellen. In diesem Falle war die Abnahme des Aktionspotentials kontinuierlich, das Minimum war etwa zum Zeitpunkt der maximalen Lähmung erreicht. Im Gegensatz hierzu war das Aktionspotential während der Serienreizung von 1/s unverändert. Ein Nachteil der Ableitung mit konzentrischen Nadelelektroden besteht darin, daß sie nicht das Gesamtpotential des Muskels, sondern nur das Verhalten einzelner Muskelfasern erfassen. Außerdem könnte durch Muskelkontraktion die Elektrode disloziert werden, wodurch eine andere motorische Einheit erfaßt würde, was sich in einer Änderung der Amplitude des Muskelaktionspotentials bemerkbar machen würde. Trotz dieses methodisch bedingten Nachteils stimmen die EMG-Befunde mit Angaben in der Literatur überein. Nach chronischer Clofibratgabe bei der Ratte konnte ebenfalls bei höherer Reizfrequenz - sowohl bei indirekter wie bei direkter Muskelreizung - eine kontinuierliche Abnahme des Muskelaktionspotentials gegenüber Kontrolltieren beobachtet werden, wobei bei niedrigen Reizfrequenzen die Abnahme nur sehr schwach ausgeprägt war (**Kwieciński** 1978). Neben der kontinuierlichen konnte auch eine vorübergehende Abnahme der Amplitude des Muskelaktionspotentials bei der experimentellen Myotonie nach 25-Azacholesterin gezeigt werden, wobei auch dort bei Reizung mit 1/s keine Veränderung am Aktionspotential zu registrieren war (**Mrożek** und **Kwieciński** 1975). Beide Arten der verminderten elektrischen

Muskelantwort auf repetitive Reizung, die kontinuierliche und die vorübergehende Abnahme, ließen sich bei der menschlichen Myotonie nachweisen (**Aminoff** et al. 1977). Die Verminderung des Aktionspotentials des myotonen Muskels könnte dadurch verursacht sein, daß ein Teil der anfangs übererregbaren myotonen Muskelfasern von einer Unerregbarkeit gefolgt wird, verursacht durch eine Depolarisation der Muskelzellmembran durch die myotonen "runs". Dies könnte die Ursache für die vorübergehende Lähmung sein (**Ricker** et al. 1978). Bei intrazellulären Ableitungen isolierter Muskelfasern führten die repetitiven Entladungen sowohl bei der experimentellen Myotonie (**Rüdel** und **Keller** 1974) als auch bei Muskelfasern von genetisch myotonen Ziegen (**Adrian** und **Bryant** 1974) zu einer Depolarisation des Membranpotentials, bis die Muskelfasern nicht mehr erregbar waren. Ungeklärt ist, wie die Lähmungsphase überwunden werden kann.

Schon unmittelbar nach intravenöser Injektion der Clofibrinsäure konnte im EMG durch Muskelbeklopfen und Bewegung der Nadelelektrode wie bei der Myotonia congenita myotone Entladung provoziert werden. Dies stimmt gut mit der Literatur überein (**Dromgoole** 1975).

Neben der Spontanaktivität konnte bei der Myotonia congenita im Anschluß an eine Kontraktion nach Muskelruhe Nachaktivität im EMG gezeigt werden. Die Nachpotentiale werden für die Erschlaffungsbehinderung des myotonen Muskels verantwortlich gemacht (**Landau** 1952).

Während nach Clofibrinsäure bei den tetanischen Kontraktionen das Ausmaß der Nachaktivität und der Relaxationsverlangsamung übereinstimmte, nahm dagegen die myotone Nachaktivität bei der Serienreizung von 1/s früher ab als die ausgeprägte Relaxationsverlangsamung. Dies könnte daran liegen, wie oben erwähnt, daß die myotone Relaxationsstörung nach aromatischen Monocarbonsäuren nicht nur durch die myotonen Entladungen allein, sondern zusätzlich durch eine intrazelluläre Calciumstörung des sarkoplasmatischen Retikulum bedingt ist (**Kuhn** und **Stein** 1966).

2. Myotonie nach 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

Die elektromyographische und mechanographische Übereinstimmung der myotonen Phänomene von 2,4-D bei der Ratte mit der Myotonia congenita beschrieben als erste **Eyzaguirre** et al. (1948). Als aromatische Monocarbonsäure bewirkt 2,4-D die Myotonie ebenfalls durch eine Chloridkanalblockade der Muskelzellmembran (**Rüdel** und **Senges** 1972 b). Die Ergebnisse der Serienreizung von 1/s nach 2,4-D stimmen prinzipiell mit denen nach Clofibrinsäure überein. Unterschiedlich war das sehr späte Auftreten einer myotonen Relaxationsstörung erst 2 bis 5 Stunden nach intravenöser Applikation, obwohl die Versuche am m. extensor digitorum longus durchgeführt wurden, der als schneller Muskel früher und ausgeprägter myotones Verhalten zeigt als langsame Muskeln (**Mrożek** et al. 1974). Die maximale Relaxationsverlangsamung nahm zwar bei der Serienreizung

von 1/s um das 12-Fache gegenüber der normalen Erschlaffungszeit zu, eine vorübergehende Lähmungsphase ließ sich jedoch nicht nachweisen. Dies könnte daran liegen, daß die Myotonie nach 2,4-D nicht hochgradig genug ist, um zu einer Lähmungsphase zu führen. Außerdem dürften bei dem sehr späten Auftreten der myotonen Symptome die stärkeren toxischen Nebenwirkungen verhindern, einen ähnlichen Schweregrad der Myotonie zu erreichen, wie nach Clofibrinsäure.

3. "Myotonie nach 20,25-Diazacholesterin (20,25-DAC)

Obwohl nach Literaturangaben die Tiere mit verschiedenen Dosierungen und Applikationsarten chronisch mit 20,25 -DAC behandelt wurden, konnte nur bei 2 Versuchen leichte Zeichen von Myotonie registriert werden. Die Substanz wurde wie bei anderen früheren Untersuchungen von **Searle & Co.**, Chicago Illinois bezogen, es konnte jedoch damit kein ähnlich hoher Myotoniegrad induziert werden.

Seiler et al. (1975) beschrieben, daß die Myotonie nach chronischer Gabe des Cholesterinsynthesehemmers dann entstehen soll, wenn jedes 2. Cholesterinmolekül der Muskelzellmembran durch die Vorstufe Desmosterin ersetzt ist. Bei Cholesterin-reicher Ernährung der Tiere konnte mit 20,25-DAC keine Myotonie induziert werden, der Demosteringehalt blieb sehr niedrig.

Nach unserer Meinung könnte vielleicht cholesterinreiches Futter erklären, warum bei unseren Tieren keine eindeutige Myotonie mit 20,25-DAC erzeugt werden konnte.

VI. Zusammenfassung

Am Modell der experimentellen Myotonie wurde untersucht, ob die bei der Myotonia congenita beschriebene passagere Lähmungsphase auch bei der chemisch induzierten Myotonie nachweisbar ist und ob sie damit ein geeignetes Modell für weitere Untersuchungen des Pathomechanismus darstellt.

Die Myotonie wurde an weiblichen Wistar-Ratten mit den beiden aromatischen Monocarbonsäuren Clofibrinsäure und 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure und dem Cholesterinsynthesehemmer 20,25-Diazacholesterin erzeugt. Sie wurde am indirekt gereizten m. triceps surae und teilweise am m. extensor digitorum longus der narkotisierten Ratte mechanographisch und elektromyographisch untersucht.

Bei der Myotonie nach Clofibrinsäure zeigte sich als Ausdruck der Myotonie bei Einzelkontraktionen der Frequenz von 1/s eine ausgeprägte Relaxationsverlangsamung, die bis zum 19-Fachen gegenüber der normalen Erschlaffung zunahm. Die Relaxationsstörung war dosisabhängig. Das "warm-up-Phänomen" war nachweisbar. Bei den Einzelkontraktionen stieg die Kontraktionskraft des myotonen Muskels vorübergehend über die des normalen Muskels an. Die myotone Nachaktivität nahm bei den Einzelkontraktionen früher ab als die ausgeprägte Relaxationsstörung, so daß bei der experimentellen Myotonie zusätzlich intrazelluläre Mechanismen eine Rolle spielen müssen.

Bei tetanischen Kontraktionen der Reizfrequenz von 80/s konnte bei kürzerer Reizdauer nach Clofibrinsäure eine dosisabhängige Relaxationsverlangsamung mit "warm-up-Phänomen" gezeigt werden. Bei der hohen Clofibrinsäuredosis trat eine vorübergehende Lähmungsphase auf, die in ihren wesentlichen Punkten mit der transitorischen Lähmungsphase bei der Myotonia congenita übereinstimmt: Zum Zeitpunkt der maximalen Lähmung ist keine myotone Relaxationsstörung und keine myotone Nachaktivität mehr nachweisbar, der Muskel befindet sich in Bezug auf diese myotonen Komponenten im "warm-up-Zustand", der Grad der vorübergehenden Lähmungsphase korreliert gut mit dem Grad der Myotonie und die Lähmungsphase zeigt das "warm-up-Phänomen". Im Gegensatz zur Myotonia congenita war bei der chemisch induzierten Myotonie nach Clofibrinsäure der Grad der vorübergehenden Lähmung deutlich geringer. Dagegen war die experimentelle Myotonie nach dem Ausmaß der Relaxationsstörung bei den Einzelkontraktionen stärker ausgeprägt als die Myotonia congenita. Wie bei der menschlichen Myotonie war die Anstiegssteilheit vom Schweregrad abhängig verlangsamt und zeigte das "warm-up-Phänomen".

Nach Gabe der beiden anderen untersuchten Substanzen konnte keine vorübergehende Lähmungsphase nachgewiesen werden.

Nach den vorliegenden Ergebnissen scheint die vorübergehende Lähmungsphase bei der Clofibrinsäure-induzierten Myotonie als Modell für weitere Untersuchungen zur Pathogenese der Lähmungsphase geeignet zu sein.

LITERATURVERZEICHNIS

Adrian R.H., Bryant S.H.

On the repetitive discharge in myotonic muscle fibres
J. Physiol. 240; 505-515 (1974)

Adrian R.H., Marshall M.W.

Actionpotentials reconstructed in normal and myotonic muscles fibres
J. Physiol. 258; 125-143 (1976)

Aminoff M.J., Layzer R.B., Satya-Murati S., Faden A.I.

The declining electrical response of muscle to repetitive nerve stimulation in myotonia
Neurology 27; 812 - 816 (1977)

Berwick P. 2,4-Dichlorphenoxyacetic acid poisoning in man
JAMA 214; 1114 - 1117 (1970)

Bretag A.H. Paradoxicaldecrease of myotonia by cold
Proc. Aust. Physiol. Pharmacol. Soc. 6; 131 (1976)

Brown G.L., Harvey A.M.

Congenital myotonia in the goat
Brain 62; 341 - 363 (1939)

Bryant S.H. Muscle membrane of normal and myotonic goats in normal and low external chloride
Fed. Proc. 21; (1962)

Bryant S.H. The electrophysiology of myotonia, with a review of congenital myotonia of goats
New developments in electromyography and Clinical Neurophysiology, edited by J.E. Desmedt, vol. 1; 420 - 450 (Karger, Basel 1973)

Bryant S.H., **Lipicky** R.J., **Herzog** W.H.
Variability of myotonic sings in motonic goats
Am. J. Vet. Res., vol. 29,12 2371-2381 (1968)

Bryant S.H., **Morales-Aguilera** A.
Chloride conductance in normal and myotonic muscle and the action of monocarboxylic aromatic acids
J. Physiol. 219; 367 - 383 (1971)

Bucher N.L.R.
Effects of 2,4-Dichlorphenoxyacetic acid on experimental animals
Proc. Soc. exp. Med. 63; 204 - 205 (1946)

Burns T.W., **Dale** H.E., **Barnett** R.K., **Langley** P.L.
The lipid and electrolyte composition of plasma and the erythrocyte of the myotonic goat
Clin. Res. 13; 235 (1965a)

Burns T.W, Dale H.E. Langley P.L.

Normal and myotonic goats receiving diazacholesterol
Amer. J. Physiol. 209; 1227-1232 (1965b)

Caccia M.R. Denervation and diazacholesterol myotonia: a study of the isometric twitch of the rat
Experimental Neurology 56; 628-633 (1977)

Caccia M.R., Boiardi A., Andreussi L., Cornelio F.

Nerve supply and experimental myotonia in rats
J. Neurol. Sci. 24; 145 - 150 (1975)

Danon J.M., Karpati G., Carpenter S.

Subacute skeletal myopathy induced by 2,4-Dichlorphenoxyacatate in rats and guinea pigs
Muscle and nerve 1; 89 - 102 (1978)

Dromgoole S.H., Campion D.S., Peter J.B.

Diazacholesterol and Triparanol induced myotonia in rats achieved by single dose administration
Experimental Neurology 49; 327 - 329 (1975)

Dromgoole S.H., Campion D.S, Peter J.B.

Myotonia induced by Clofibrate and sodium chlorphenoxyisobutyrate
Biochemical Medicine 14; 238 - 240 (1975)

Eberstein A., Goodgold J.

Induced myotonia in fast and slow muscles of the rat
Experientia 25; 1269 - 1270 (1969)

Eberstein A., Goodgold J.

Myotonia induced with clofibrate
Electromyogr. clin. Neurophysiol. 13; 141 (1973)

Eddy N.B. Studies of Phenanthrene derivates. I. A comparsion of phenanthrene and some 2-, 3-, and 9-monosubstitution products
J. Pharmacol. exp. Ther. 48; 183-198 (1933)

Eyzaguirre C., Folk B.P., Zierler K.L., Lilienthal J.L.

Experimental myotonia and repetitive phenomena: The veratrinic effects of 2,4-Dichlorphenoxyacetate (2,4-D) in the rat
Amer. J. Physiol. 155; 69-77 (1948)

Falk G., Landa J.R.

Effects of potassium on frog skeletal muscle in a chloride-deficient medium
Amer. J. Physiol. 198; 1225-1231 (1960)

Furman R.E., Barchi R.L.

The pathophysiology of myotonia produced by aromatic carboxylic acids
Ann. Neurol. 4; 357-365 (1978)

Goodgold J., Eberstein A.

An electromyographic study of induced myotonia in rats
Experimental Neurology 21; 159 - 166 (1968)

Hofmann W.W., Alston W., Rowe G.

A study of individual neuro-muscular junctions in myotonia
Electroenceph. clin. Neurophysiol. 21; 521 - 537 (1966)

Hofmann W.W., Rowe G.

Electrophysiological study of myotonia
Nature 212; 954 (1966)

Hutter O.F., Noble D.

The chloride conductance of frog skeletal muscle
J. Physiol., Lond. 151; 89 - 102 (1960)

Iyer V., Ranish N.A., Fenichel G.M.

The effect of denervation on subsequent in vitro induction of myotonia
Neurology 27; 669 - 671 (1977)

Iyer V., Whiting M., Fenichel G.

Neural influence on experimental myotonia
Neurology 27; 73 - 76 (1977)

Kern R., Blumhoff J., Kuhn E.

Ruhe- und Aktionspotential am Rattenzwerchfell bei experimenteller Myotonie nach 20,25-Diazacholesterin
Z. ges. exp. Med. 153; 256 - 268 (1970)

Kuhn E., Dorow W., Kahlke W., Pfisterer H.

Myotonie nach 20,25-Diazacholesterin bei der Ratte. Elektromyographie, Mechanokardiographie, Fettsäurenanalyse der Phosphatide des Skeletmuskels
Klin. Wschr. 46; 1043 - 1045 (1968)

Kuhn E., Seiler D.

Biochemische Besonderheiten und Unterschiede der autosomal dominant und autosomal recessiv vererbten Myotonia congenita
Klin. Wschr. 48; 1134 - 1136 (1970)

Kuhn E., Stein W.

Modell-Myotonie nach 2,5-Dichlorphenoxyacetat bei der Ratte. Bestimmung des Glucose-6-Phosphates, Adenosintriphosphates und Adenosindiphosphates im Musculus pectoralis
Klin. Wschr. 42; 1215 (1964)

Kuhn E., Stein W.

Modellmyotonie nach 2,4-Dichlorphenoxy-acetat (2,4-D) bei der Ratte. In vitro und in vivo-Untersuchungen über den Einfluß von 2,4-D auf den Energiestoffwechsel des Muskels
Klin. Wschr. 43; 673 - 677 (1965)

Kuhn E., Stein W.

Modellmyotonie nach 2,4-Dichlorphenoxy-acetat (2,4-D): Calciumaufnahme der Vesikel des sarkoplasmatischen Reticulums unter 2,4-D
Klin. Wschr. 44; 700 - 702 (1966)

Kwieciński H.

Myotonia induced with Clofibrate in rats
J. Neurol. 219; 107 - 116 (1978)

Landau W.M. The essential mechanism in myotonia. An electromyographic study
Neurology 2; 369 - 388 (1952)

Lüllmann H. Das Verhalten normaler und denervierter Skelettmuskulatur in chloridfreiem Medium (Methylsulfat-Tyrodelösung)
Arch. exp. Path. Pharmacol. 240; 351 - 360 (1961)

Moffett R.B. and Tang A.H.

Skeletal muscle stimulants substituted benzoic acids
J. med. pharm. Chem. 11; 1020 - 1022 (1968)

Mrożek K., Kwieciński H.

Neuromuscular failure in myotonic rats
Eur. Neurol. 13; 47 - 53 (1975)

Mrożek K., Kwieciński H., Kamińska A.

Experimental myotonia. Myotonic activity of the fast and slow muscles
Acta Physiol. Pol. 25 (4); 321 - 327 (1974)

Nickander R., Kattau R., Rathbun R., Slater J.

Chemically induced myotonia by antiarrhytmics
Abstr. 4 th int. Congr. Pharmacology; p. 424 (1969)

Niebrój-Dobosz I., Kwieciński H., Kamińska A.

Myofibrillar protein pattern in experimental myotonia in rats
Journal of the Neurological Sciences 29; 241 - 247 (1976 a)

Niebrój-Dobosz I., Kwieciński H., Mrożek K.

Plama membranes of muscle in experimental myotonia in rats
J. Neurol. 213; 353 - 360 (1976 b)

Niebrój-Dobosz I., Kwieciński H., Mrożek K.

Sarcoplasmatic reticulum in experimental myotonia in rats
J. Neurol. 213; 361 - 368 (1976 c)

Palade P.T., Barchi R.L.

On The inhibition of muscle membrane chloride conductance by aromatic carboxylic acids
J. Gen. Physiol. 69; 879 - 895 (1977)

Peter J.B., Campion D.S., Dromgoole S.H., Nagatomo T., Andiman R.M.

Similarities and differences between human and drug-induced myotonia in rats
in: recent advances in myology
Exerpta medica: Amsterdam 1975

Pohl J. Die physiologischen Wirkungen des Hydroatophans
Z. exp. Path. Ther. 19; 198 - 204 (1917)

Pohl J., Hesse E.

Zur Pharmakologie des Tetrophans
Klin. Wschr. 4; 343 - 348 (1925)

Ricker K., Haaß A., Hertel G., Mertens H.G.

Transient muscular weakness in severe recessive myotonia congenita
J. Neurol. 218; 253 - 262 (1978)

Ricker K., Hertel G., Langscheid K., Stodieck G.

Myotonia not aggravated by cooling
J. Neurol. 216; 9 - 20 (1977)

Ricker K., Meinck H.-M., Stumpf H.

Neurophysiologische Untersuchungen über das Stadium passagerer Lähmung bei Myotonia congenita und Dystrophia myotonica
Z. Neurol. 204; 135 - 148 (1973)

Rüdel R., Keller M.

Intracellular recording of myotonia runs in dantrolene blocked myotonic muscle fibres
in: Recent advances in myology
Exerpta Medica: Amsterdam 1975

Rüdel R., Senges J.

Experimental myotonia in mammilian skeletal muscle.Changes in membrane properties
Pflügers Arch. ges. Physiol. 331; 324 - 334 (1972 a)

Rüdel R., Senges J.

Myotonia produced in vitro by reduction of extracellular chloride
Pflügers Arch. 332; R 72 (1972 c)

Rüdel R., Senges J.

Mammilian skeletal muscle: reduced chloride conductance in drug-induced myotonia by low-chloride solution
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 274; 337 - 347 (1972 b)

Schröder J.M., Kuhn E.

Zur Ultrastruktur der Muskelfaser bei der experimentellen "Myotonie" mit 20,25-Diazacholesterin
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 344; 181 - 195 (1968)

Seiler D., Fiehn W., Kuhn E.

Disturbances in cholesterol biosynthesis as a cause of experimental myotonia
in: Recent advances in myology
Exerpta Medica: Amsterdam 1975

Seiler D., Kuhn E.

Experimentelle Myotonie durch Amine. Veränderungen am Fettsäuremuster der Phosphatide im Rattenmuskel
Klin. Wschr. 47; 1114 - 1115 (1969)

Seiler D., Kuhn E.

Experimentelle Myotonie durch 20,25-Diazacholesterin. Analyse der Phospholipide und Cholesterinester des sarkoplasmatischen Reticulums und des Sarkolemm
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 9. Jg., 245 - 248 (1971)

Senges J., Rüdel R.

Experimental myotonia in mammilian skeletal muscle: Changes in contractile properties
Pflügers Arch. 331; 315 - 323 (1972)

Smith R.G. Studies on phenanthrene derivates IV. A veratrine-like action on skeletal muscle of certains 9-substitution products of phenanthrene
J. Pharmacol. exp. Ther. 54; 87 - 99 (1935)

Stein W., Kuhn E.

Modellmyotonie nach 2,4-Dichlorphenoxy-acetat (2,4-D). Isoliertes Rattenzwerchfell-präparat als einfaches Untersuchungsobjekt
Klin. Wschr. 46; 328 - 330 (1968)

Tang A.H., Schroeder L.A., Keasling H.H.

U-23, 223 (3-Chloro-2,5,6-Trimethylbenzoic acid), a veratrinic agent selective for the skeletal muscles
Arch. int. Pharmacodyn. 175; Nr. 2; 319 - 329 (1968)

Winer N., Klachko D.M., Baer R.D., Langley P.L., Burns T.W.

Studies on the pathogenesis of myotonia
Clin. Res. 13; (1965 a)

Winer N., Martt J.M., Somers J.E., Wolcott L., Dale H.E., Burns T.W.

Induced myotonia in man and goat
J. Lab. clin. Med. 66; 758 - 769 (1965 b)

Winer N., Klachko D.M., Baer R.D., Langley P.L., Burns T.W.

Myotonic response induced by inhibitors of cholesterol biosynthesis
Science 153; 312 - 313 (1966)

LEBENSLAUF

Am 6. Januar 1954 wurde ich als Sohn des Technischen Angestellten Albert Leustenring und seiner Ehefrau Maria, geb. Hartmann, in Rothenhof Kreis Coburg geboren.

Nach vierjährigem Besuch der Volksschule in Rothenhof trat ich 1964 in das Gymnasium Casimirianum in Coburg ein und legte dort 1973 die Reifeprüfung ab.

Anschließend leistete ich meinen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr ab.

Im April 1974 wurde ich auf Grund eines Zulassungsbescheids zum Medizinstudium vorzeitig aus der Bundeswehr entlassen und begann im Sommersemester 1974 das Studium der Medizin an der Universität Würzburg, wo ich im März 1976 die Ärztliche Vorprüfung bestand. Im April 1980 legte ich dort erfolgreich die Ärztliche Prüfung ab.

Johannes Leustenring

Druck: Böhler-Verlag 87 Würzburg, Seilerstr. 10-10a